PC72251A

DERIVADOS DE PIRAZOLO[1,5-A]PIRAZIN-4-ILO COMO INHIBIDORES DE JAK

CAMPO DE LA INVENCIÓN

La presente invención proporciona pirazolo[1,5-a]pirazin-4-ilo farmacéuticamente activo, ligandos de TYK2 y análogos. Tales compuestos son útiles para inhibir quinasas Janus (JAK). La invención también se refiere a composiciones que comprenden métodos para obtener tales compuestos, y a métodos para el tratamiento y la prevención de afecciones mediadas por JAK.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

Las proteínas quinasas son familias de enzimas que catalizan la fosforilación de residuos específicos en las proteínas, que se clasifican ampliamente en tirosina y serina/treonina quinasas. La actividad inadecuada de la quinasa, que deriva de la mutación, sobreexpresión o regulación incorrecta, desregulación, así como de la producción en exceso o deficiente de factores de crecimiento o citocinas, se ve involucrada en muchas enfermedades, que incluyen, entre otras, cáncer, enfermedades cardiovasculares, alergias, asma y otras enfermedades respiratorias, enfermedades autoinmunitarias, enfermedades inflamatorias, enfermedades óseas, trastornos metabólicos, y trastornos neurológicos y neurodegenerativos, tales como enfermedad de Alzheimer. La actividad inadecuada de la quinasa desencadena diversas respuestas celulares biológicas relacionadas con el crecimiento celular, la diferenciación celular, la función celular, la supervivencia, la apoptosis y la movilidad celular que participa en las enfermedades antes mencionadas y relacionadas con aquellas.

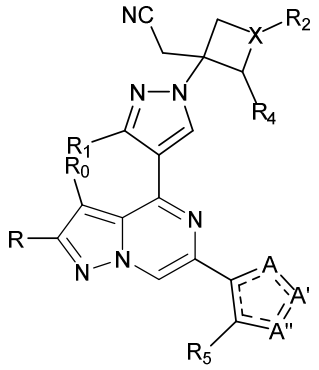
Por ello, las proteínas quinasas surgieron como una clase importante de enzimas como dianas para la intervención terapéutica. En particular, la familia JAK de proteínas tirosina quinasas celulares (JAK1, JAK2, JAK3 y Tyk2) cumplen una función fundamental en la señalización de las citocinas (Kisseleva *et al*., Gene, 2002, 285, 1; Yamaoka *et al*. Genome Biology 2004, 5, 253)). Luego de la fijación a sus receptores, las citocinas activan las JAK que luego fosforilan el receptor de citocina, por lo cual se crean sitios de acoplamiento para las moléculas de señalización, en particular, miembros de la familia del transductor de señal y activador de la transcripción (STAT) que, en última instancia, generan la expresión génica. Se sabe que muchas citocinas activan la familia JAK. Estas citocinas incluyen la familia de interferones (IFN) (IFN-alfa, IFN-beta, IFN-omega, Limitin, IFN-gamma, IL-10, IL-19, IL-20, IL-22), la familia gp130 (IL-6, IL-11, OSM, LIF, CNTF, NNT-1/BSF-3, G-CSF, CT-1, Leptin, IL-12, IL-23), la familia gamma C (IL-2, IL-7, TSLP, IL-9, IL-15, IL-21, IL-4, IL-13), la familia IL-3 (IL-3, IL-

5, GM-CSF), la familia de cadena simple (EPO, GH, PRL, TPO), los receptores de tirosina quinasa (EGF, PDGF, CSF-1, HGF) y los receptores acoplados a la proteína G (AT1).

Aún es necesario hallar nuevos compuestos que inhiban eficaz y selectivamente enzimas JAK específicas: TYK2 en particular. TYK2 es un miembro de la familia de quinasas JAK y es importante en la señalización de interferones tipo I (que incluyen IFNalfa, INFbeta), IL-6, IL-10, IL-12 y IL-23 (Liang, Y. et al., Expert Opinion on Therapeutic Targets, 18, 5, 571-580 (2014)). Como tal, TYK2 señaliza con otros miembros de la familia de quinasas JAK en las siguientes combinaciones: TYK2/JAK1, TYK2/JAK2, TYK2/JAK1/JAK2. Se demostró que TYK2 es importante en la diferenciación y función de múltiples tipos de células fundamentales en la enfermedad inflamatoria y la enfermedad autoinmunitaria, que incluye los tipos de células *killer* naturales, linfocitos B y linfocitos T colaboradores. La expresión anómala de TYK2 está asociada a múltiples afecciones autoinmunitarias o inflamatorias. La modulación de la actividad inmunitaria mediante la inhibición de la actividad de la quinasa TYK2 puede resultar útil en el tratamiento de diversos trastornos inmunitarios (O'Shea JJ, Plenge R, Immunity, 36, 542-50 (2012); Murray, P.J., J. Immunol., 178, 2623–2629 (2007); Kisseleva, T., et al., Gene, 285, 1–24 (2002)), y a la vez, evitar la señalización de eritropoyetina dependiente de JAK2 (EPO) y trombopoyetina (TPO) (Neubauer H., et al., Cell, 93(3), 397-409 (1998); Parganas E., et al., Cell, 93(3), 385-95 (1998)).

SÍNTESIS DE LA INVENCIÓN

La presente invención proporciona un compuesto de la Fórmula **I** que tiene la siguiente estructura:



(I)

o una sal de aquel aceptable desde el punto de vista farmacéutico, o un solvato aceptable desde el punto de vista farmacéutico del compuesto o de la sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico, en donde: A, A' y A'' son independientemente O,

C=O, C-R' o N-R'', en donde R' y R'' pueden ser independientemente H, amino, -NR_7COR_6, COR^6, -$CONR_7R_8$, C_1-C_6 alquilo o hidroxi(C_1-C_6 alquilo), y R'' puede estar presente o ausente, y está presente donde las reglas de valencia lo permiten, y en donde no más de uno de A, A' y A'' es O o C=O; R_0 y R son independientemente H, Br, Cl, F o C_1-C_6 alquilo; R_1 es H, C_1-C_6 alquilo o hidroxi(C_1-C_6 alquilo); R_2 se selecciona del grupo que consiste en H, C_1-C_6 alquilo, C_1-C_6 alcoxi, hidroxi(C_1-C_6 alquilo), fenil(C_1-C_6 alquilo), formilo, heteroarilo, heterocíclico, -COR_6, -$OCOR_6$, -$COOR_6$, -NR_7COR_6, -$CONR_7R_8$ y -$(CH_2)_n$-W, en donde W es ciano, hidroxi, C_3-C_8 cicloalquilo, -$SO_2NR_7R_8$ y -SO_2-R_9, en donde R_9 es C_1-C_6 alquilo, C_3-C_8 cicloalquilo, heteroarilo o heterocíclico; en donde cada uno de alquilo, cicloalquilo, heterocíclico o heteroarilo puede ser no sustituido o sustituido por halo, ciano, hidroxi o C_1-C_6 alquilo; X es C-R_3 o N, en donde R_3 puede ser H o C_1-C_6 alquilo; R_4 y R_5 son independientemente H, amino, C_1-C_6 alquilo o hidroxi(C_1-C_6 alquilo); R_6, R_7 y R_8 son, cada uno independientemente, H, C_1-C_6 alquilo, C_1-C_4 alcoxi(C_1-C_6 alquilo) o C_3-C_8 cicloalquilo, dicho C_1-C_6 alquilo se sustituye opcionalmente con halo, CN o hidroxi; o R_7 y R_8, junto con el átomo unido a estos, forman un anillo de 5 o 6 miembros, en donde el anillo se sustituye opcionalmente con halo, hidroxi, CN o C_1-C_6 alquilo; y *n* es 0, 1, 2 o 3.

En otros aspectos, la presente invención también proporciona:

Composiciones farmacéuticas que comprenden un portador aceptable desde el punto de vista farmacéutico y un compuesto de la Fórmula I;

métodos para tratar afecciones o trastornos que incluyen inflamación, respuesta autoinmunitaria, lupus eritematoso sistémico, nefritis lúpica, lupus discoide, lupus cutáneo, lupus del sistema nervioso central, artritis reumatoide, artritis psoriásica, enfermedad intestinal inflamatoria, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, asma, asma alérgico, diabetes tipo I, polimiositis, dermatomiositis, interferonopatías tipo I que incluyen el síndrome de Aicardi–Goutières y otras enfermedades mendelianas de sobrexpresión del interferón tipo I, esclerosis múltiple, esclerosis múltiple progresiva primaria, esclerosis múltiple remitente-recidivante, cirrosis biliar primaria, también denominada colangitis biliar primaria, colangitis esclerosante primaria, hepatitis autoinmunitaria, hepatopatía grasa no alcohólica, esteatohepatitis no alcohólica, psoriasis, dermatomiositis, escleroderma, dermatitis atópica, vitíligo, alopecia areata, espondilopatía, espondilitis anquilosante, enfermedad de Alzheimer, neuroinflamación, miositis, vasculitis, pénfigo, enfermedad de Crohn, lupus, nefritis, psoriasis, esclerosis múltiple, trastorno depresivo mayor, alergia, asma, enfermedad de Sjogren, síndrome de ojo seco, rechazo al trasplante, cáncer, enfermedad intestinal inflamatoria, choque

séptico, disfunción cardiopulmonar, vitíligo, alopecia, enfermedad respiratoria aguda, espondilitis anquilosante, hepatitis autoinmunitaria, colangitis esclerosante primaria, cirrosis biliar primaria, enfermedad de Alzheimer o cachexia, administrando a un sujeto que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la Fórmula I o una sal de este aceptable desde el punto de vista farmacéutico;

Métodos para el tratamiento de afecciones o trastornos que incluyen dermatitis atópica, eccema, psoriasis, esclerodermia, lupus, prurito, fatiga, otras afecciones pruríticas, reacciones alérgicas que incluyen dermatitis alérgica en mamíferos (lo que incluye enfermedades alérgicas en equinos, tales como hipersensibilidad a las mordidas), eccema estival, alergia a las picaduras de culicoides en los caballos, obstrucción recurrente de las vías aéreas en los caballos, enfermedad inflamatoria de las vías aéreas, obstrucción recurrente de las vías aéreas, hiperreactividad de las vías aéreas y enfermedad pulmonar obstructiva crónica, mediante la administración a un mamífero que lo necesita de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la Fórmula I, o una sal de aquel aceptable desde el punto de vista farmacéutico; y métodos para la preparación de compuestos de la presente invención.

La presente invención también se comprenderá de la siguiente descripción que se proporciona a modo de ejemplo. La presente invención se refiere a una clase de derivados de pirazolo[1,5-a]pirazin-4-ilo. En particular, la presente invención se refiere a compuestos de pirazolo[1,5-a]pirazin-4-ilo útiles como inhibidores de JAK, en particular, TYK2. Si bien la presente invención no se limita a lo siguiente, se podrán apreciar mejor distintos aspectos de la invención mediante el análisis y los ejemplos que se indican a continuación.

El término “alquilo”, solo o en combinación, significa un grupo hidrocarburo acíclico saturado de la fórmula C_nH_{2n+1} que puede ser lineal o ramificado. Los ejemplos de estos grupos incluyen metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, sec-butilo, ter-butilo, pentilo, iso-amilo y hexilo. A menos que se especifique lo contrario, un grupo alquilo comprende de 1 a 6 átomos de carbono. El contenido del átomo de carbono de alquilo y otras varias porciones que contienen hidrocarburo se indica mediante un prefijo que designa una cantidad menor y mayor de átomos de carbono en la porción, es decir, el prefijo C_i-C_j indica una porción del entero "i" al entero "j" de átomos de carbono, inclusive. De esta manera, por ejemplo, C_1-C_6 alquilo se refiere a alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, inclusive.

Como se usa en la presente, el término "hidroxi" se refiere a un grupo OH. El término “heterocíclico” se refiere a un heterociclo saturado o parcialmente saturado (es

decir, no aromático) que contiene 3 a 10 átomos del anillo, en donde uno o más átomos del anillo, preferentemente, 1, 2 o 3, son heteroátomos seleccionados de N, O y S, los restantes son carbono, y que se puede unir mediante un átomo de nitrógeno del anillo o un átomo de carbono del anillo. De la misma manera, cuando está sustituido, el sustituyente se puede ubicar en un átomo de nitrógeno del anillo (si el sustituyente se une mediante un átomo de carbono) o un átomo de carbono del anillo (en todos los casos). Los ejemplos específicos incluyen oxiranilo, aziridinilo, oxetanilo, azetidinilo, tetrahidrofuranilo, pirrolidinilo, tetrahidropiranilo, piperidinilo, 1,4-dioxanilo, morfolinilo, piperazinilo, azepanilo, oxepanilo, oxazepanilo y diazepinilo.

El término “arilo” se refiere a un hidrocarburo aromático monocíclico o bicíclico que contiene 6 a 10 átomos de carbono del anillo que se puede unir mediante uno de los átomos de carbono del anillo. De la misma manera, cuando está sustituido, el sustituyente se puede ubicar en un átomo de carbono del anillo. Los ejemplos específicos incluyen, entre otros, fenilo, tolilo, xililo, trimetilfenilo y naftilo. Los ejemplos de sustituyentes arilo incluyen, entre otros, alquilo, hidroxilo, halo, nitrilo, alcoxi, trifluorometilo, carboxamido, SO_2Me, bencilo y bencilo sustituido.

El término “heteroarilo” se refiere a un heterociclo aromático monovalente monocíclico o bicíclico de 5 a 10 átomos del anillo, en donde uno o más átomos del anillo, preferentemente, 1, 2 o 3, son heteroátomos seleccionados de N, O y S, los restantes son carbono, y que se puede unir mediante un átomo de carbono del anillo o un átomo de nitrógeno del anillo con la valencia adecuada. De la misma manera, cuando está sustituido, el sustituyente se puede ubicar en un átomo de carbono del anillo o en un átomo de nitrógeno del anillo con la valencia adecuada. Los ejemplos específicos incluyen, entre otros, tienilo, furanilo, pirrolilo, pirazolilo, imidazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, tiazolilo, isotiazolilo, triazolilo, oxadiazolilo, tiadiazolilo, tetrazolilo, piridilo, piridazinilo, pirimidinilo y pirazinilo. El término "cicloalquilo" significa un grupo de hidrocarburos monocíclicos saturados de la fórmula C_nH_{2n-1}. Los ejemplos incluyen, entre otros, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo y cicloheptilo. A menos que se especifique lo contrario, un grupo cicloalquilo comprende de 3 a 8 átomos de carbono.

Los términos “halo” y “halógeno” se refieren a fluoruro (F), cloruro (Cl), bromuro (Br) o yoduro (I).

El término "mamífero" se refiere a ser humano, ganado o animales de compañía.

Las expresiones “animal de compañía” o “animales de compañía” se refieren a animales destinados al uso como mascotas o animales domésticos. Los ejemplos de animales de compañía incluyen perros, gatos y roedores, que incluyen hámsters,

cobayos, jerbos y similares, conejos, hurones y pájaros.

El término “ganado” se refiere a animales que se crían en un entorno agrícola para obtener productos tales como alimentos o fibras, o para hacerlos trabajar. En algunas formas de realización, el ganado es adecuado para el consumo por parte de mamíferos, por ejemplo, seres humanos. Los ejemplos de ganado incluyen vacas, cabras, caballos, cerdos, ovejas, inclusive corderos, y conejos, así como aves, tales como gallinas, gansos y pavos.

Los términos “tratar” o “tratamiento” significan un alivio de los síntomas asociados a una enfermedad, trastorno o afección, o la detención de la progresión o el empeoramiento de estos síntomas. Según la enfermedad y la afección del paciente, el término “tratamiento”, como se usa en la presente, puede incluir uno o más de los siguientes: tratamiento curativo, paliativo y profiláctico. El tratamiento también puede incluir administrar una formulación farmacéutica de la presente invención en combinación con otros tratamientos.

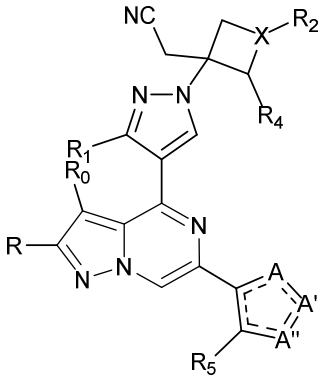
La expresión "terapéuticamente eficaz" indica la capacidad de un agente de prevenir un trastorno o reducir su gravedad. La expresión "terapéuticamente eficaz" es equivalente a la expresión "eficaz para el tratamiento, la prevención o la mejora", y ambas pretenden calificar la cantidad de un agente que logrará reducir la gravedad del cáncer, de la enfermedad cardiovascular o del dolor e inflamación, y la frecuencia de la incidencia que tiene cada agente en el tratamiento.

“Aceptable desde el punto de vista farmacéutico” significa adecuado para usar en mamíferos, animales de compañía o ganado.

Si los sustituyentes se describen como que se “seleccionan independientemente” de un grupo, cada sustituyente se selecciona de manera independiente de los otros. Por lo tanto, cada sustituyente puede ser idéntico o diferente de los otros sustituyentes.

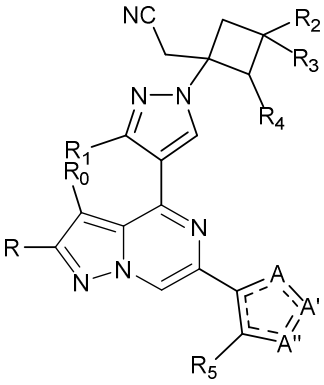
DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

La presente invención se refiere a compuestos novedosos que son moduladores de TYK2 selectivos útiles para el tratamiento de enfermedades y afecciones asociadas a la desregulación de TYK2. La presente invención también proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden estos moduladores de la enzima JAK, así como métodos para el tratamiento y/o la prevención de tales enfermedades y afecciones. En consecuencia, la presente invención proporciona un compuesto de la Fórmula I como se representó anteriormente que tiene la estructura (I):



(I)

La invención también proporciona un compuesto que tiene la estructura (Ia):

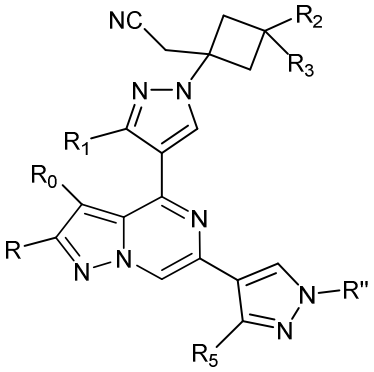


(Ia)

o una sal de aquel aceptable desde el punto de vista farmacéutico, o un solvato aceptable desde el punto de vista farmacéutico del compuesto o de la sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico, en donde: A, A' y A'' son independientemente O, C=O, C-R' o N-R'', en donde R' y R'' pueden ser independientemente H, amino, -NR_7COR_6, COR^6, -$CONR_7R_8$, C_1-C_6 alquilo o hidroxi(C_1-C_6 alquilo), y R'' puede estar presente o ausente, y está presente donde las reglas de valencia lo permiten, y en donde no más de uno de A, A' y A'' es O o C=O; R_0 y R son independientemente H, Br, Cl, F o C_1-C_6 alquilo; R_1 es H, C_1-C_6 alquilo o hidroxi(C_1-C_6 alquilo); R_2 se selecciona del grupo que consiste en H, C_1-C_6 alquilo, C_1-C_6 alcoxi, hidroxi(C_1-C_6 alquilo), fenil(C_1-C_6 alquilo), formilo, heteroarilo, heterocíclico, -COR_6, -$OCOR_6$, -$COOR_6$, -NR_7COR_6, -$CONR_7R_8$ y -$(CH_2)_n$-W, en donde W es ciano, hidroxi, C_3-C_8 cicloalquilo, -$SO_2NR_7R_8$ y -SO_2-R_9, en donde R_9 es C_1-C_6 alquilo, C_3-C_8 cicloalquilo, heteroarilo o heterocíclico; en donde cada uno de alquilo, cicloalquilo, heterocíclico o heteroarilo puede ser no sustituido o sustituido por halo, ciano, hidroxi o C_1-C_6 alquilo; R_3 puede ser H o C_1-C_6 alquilo; R_4 y R_5 son independientemente H, amino, C_1-C_6 alquilo o hidroxi(C_1-C_6 alquilo); R_6, R_7 y R_8 son,

cada uno independientemente, H, C_1-C_6 alquilo, C_1-C_4 alcoxi(C_1-C_6 alquilo) o C_3-C_8 cicloalquilo, dicho C_1-C_6 alquilo se sustituye opcionalmente con halo, CN o hidroxi; o R_7 y R_8, junto con el átomo unido a estos, forman un anillo de 5 o 6 miembros, en donde el anillo se sustituye opcionalmente con halo, hidroxi, CN o C_1-C_6 alquilo; y *n* es 0, 1, 2 o 3.

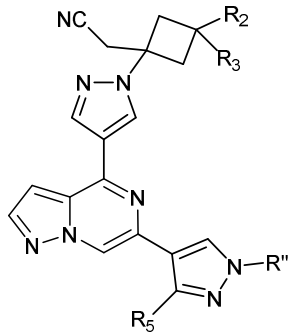
La invención también proporciona un compuesto que tiene la estructura (Ib):



(Ib)

o una sal de aquel aceptable desde el punto de vista farmacéutico, o un solvato aceptable desde el punto de vista farmacéutico del compuesto o de la sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico, en donde: R'' es H, -COR_6, -$CONR_7R_8$, C_1-C_6 alquil- o hidroxi(C_1-C_6 alquil)-; R_0 y R son independientemente H, Br, Cl, F o C_1-C_6 alquilo; R_1 es H, C_1-C_6 alquilo o hidroxi(C_1-C_6 alquilo); R_2 se selecciona del grupo que consiste en H, C_1-C_6 alquilo, C_1-C_6 alcoxi, hidroxi(C_1-C_6 alquilo), fenil(C_1-C_6 alquilo), formilo, heteroarilo, heterocíclico, -COR_6, -$OCOR_6$, -$COOR_6$, -NR_7COR_6, -$CONR_7R_8$ y -$(CH_2)_n$-W, en donde W es ciano, hidroxi, C_3-C_8 cicloalquilo, -$SO_2NR_7R_8$ y -SO_2-R_9, en donde R_9 es C_1-C_6 alquilo, C_3-C_8 cicloalquilo, heteroarilo o heterocíclico; en donde cada uno de alquilo, cicloalquilo, heterocíclico o heteroarilo puede ser no sustituido o sustituido con halo, ciano, hidroxi o C_1-C_6 alquilo; R_3 puede ser H o C_1-C_6 alquilo; R_5 es H, amino, C_1-C_6 alquilo o hidroxi(C_1-C_6 alquilo); R_6, R_7 y R_8 son, cada uno independientemente, H, C_1-C_6 alquilo, C_1-C_4 alcoxi(C_1-C_6 alquilo) o C_3-C_8 cicloalquilo, en donde C_1-C_6 alquilo se sustituye opcionalmente con halo, CN o hidroxi; o R_7 y R_8, junto con el átomo unido a estos, forman un anillo de 5 o 6 miembros, en donde dicho anillo se sustituye opcionalmente con halo, hidroxi, CN o C_1-C_6 alquilo; y *n* es 0, 1, 2 o 3.

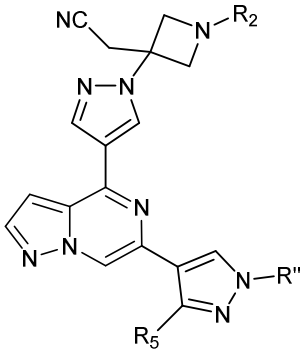
La invención también proporciona un compuesto que tiene la estructura (Ic):



(Ic)

o una sal de aquel aceptable desde el punto de vista farmacéutico, o un solvato aceptable desde el punto de vista farmacéutico del compuesto o de la sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico, en donde: R'' es H, $-COR_6$, $-CONR_7R_8$, C_1-C_6 alquilo o hidroxi(C_1-C_6 alquilo); R_2 se selecciona del grupo que consiste en H, C_1-C_6 alquil-, C_1-C_6 alcoxi-, hidroxi(C_1-C_6 alquil)-, fenil(C_1-C_6 alquil)-, formilo, heteroarilo, heterocíclico, $-COR_6$, $-OCOR_6$, $-COOR_6$, $-NR_7COR_6$, $-CONR_7R_8$ y $-(CH_2)_n$-W, en donde W es ciano, hidroxi, C_3-C_8 cicloalquilo, $-SO_2NR_7R_8$ y $-SO_2$-R_9, en donde R_9 es C_1-C_6 alquilo, C_3-C_8 cicloalquilo, heteroarilo o heterocíclico; en donde cada uno de alquilo, cicloalquilo, heterocíclico o heteroarilo puede ser no sustituido o sustituido con halo, ciano, hidroxi o C_1-C_6 alquilo; R_3 es H o C_1-C_6 alquilo; R_5 es H, amino, C_1-C_6 alquil- o hidroxi(C_1-C_6 alquil)-; R_6, R_7 y R_8 son, cada uno independientemente, H, C_1-C_6 alquil-, C_1-C_4 alcoxi(C_1-C_6 alquil)- o C_3-C_8 cicloalquilo, en donde dicho C_1-C_6 alquilo se sustituye opcionalmente con halo, CN o hidroxi; o R_7 y R_8, junto con el átomo unido a estos, forman un anillo de 5 o 6 miembros, en donde el anillo se puede sustituir opcionalmente con halo, hidroxi, CN o C_1-C_6 alquilo; y *n* es 1, 2 o 3. En una forma de realización particular, la invención proporciona el compuesto en donde R'' es C_1-C_6 alquilo, y R_5 es H.

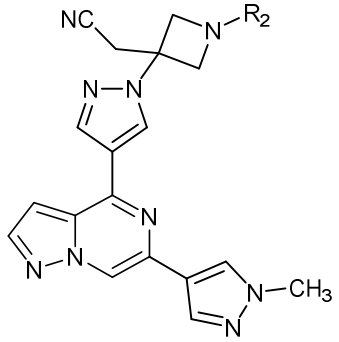
La invención también proporciona un compuesto que tiene la estructura (Id):



(Id)

o una sal de aquel aceptable desde el punto de vista farmacéutico, o un solvato aceptable desde el punto de vista farmacéutico del compuesto o de la sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico, en donde: R'' es H, $-COR_6$, $-CONR_7R_8$, C_1-C_6 alquilo o hidroxi(C_1-C_6 alquilo); R_2 se selecciona del grupo que consiste en H, C_1-C_6 alquilo, C_1-C_6 alcoxi, hidroxi(C_1-C_6 alquilo), fenil(C_1-C_6 alquilo), formilo, heteroarilo, heterocíclico, $-COR_6$, $-OCOR_6$, $-COOR_6$, $-NR_7COR_6$, $-CONR_7R_8$ y $-(CH_2)_n$-W, en donde W es ciano, hidroxi, C_3-C_8 cicloalquilo, $-SO_2NR_7R_8$ y $-SO_2$-R_9, en donde R_9 es C_1-C_6 alquilo, C_3-C_8 cicloalquilo, heteroarilo o heterocíclico; en donde cada uno de alquilo, cicloalquilo, heterocíclico o heteroarilo puede ser no sustituido o sustituido con halo, ciano, hidroxi o C_1-C_6 alquilo; R_5 es H, amino, C_1-C_6 alquil- o hidroxi(C_1-C_6 alquil)-; R_6, R_7 y R_8 son, cada uno independientemente, H, C_1-C_6 alquilo, C_1-C_4 alcoxi(C_1-C_6 alquilo) o C_3-C_8 cicloalquilo, dicho C_1-C_6 alquilo se sustituye opcionalmente con halo, CN o hidroxi; o R_7 y R_8, junto con el átomo unido a estos, forman un anillo de 5 o 6 miembros, en donde dicho anillo se sustituye opcionalmente con halo, hidroxi, CN o C_1-C_6 alquilo; y *n* es 1, 2 o 3. En una forma de realización particular, la invención proporciona el compuesto en donde R'' es C_1-C_6 alquilo, y R_5 es H.

La invención también proporciona un compuesto que tiene la estructura (Ie):

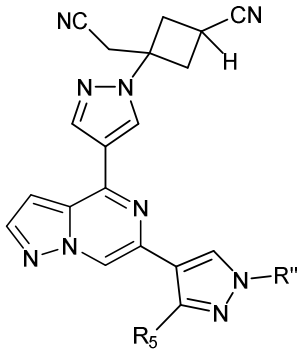


(Ie)

o una sal de aquel aceptable desde el punto de vista farmacéutico, o un solvato aceptable desde el punto de vista farmacéutico del compuesto o de la sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico, en donde: R_2 se selecciona del grupo que consiste en H, C_1-C_6 alquil-, C_1-C_6 alcoxi-, hidroxi(C_1-C_6 alquil)-, fenil(C_1-C_6 alquil)-, formilo, heteroarilo, heterocíclico, $-COR^6$, $-OCOR^6$, $-COOR^6$, $-CONR^7R^8$ y $-(CH_2)_n$-W, en donde W es ciano, hidroxi, C_3-C_8 cicloalquilo, $-SO_2NR^7R^8$ y $-SO_2$-R', en donde R' es C_1-C_6 alquilo, C_3-C_8 cicloalquilo, heteroarilo o heterocíclico; en donde cada uno de alquilo, cicloalquilo, heterocíclico o heteroarilo puede ser no sustituido o sustituido con halo, ciano, hidroxi o C_1-C_6 alquilo; R_6, R_7 y R_8 son, cada uno independientemente, H, C_1-C_6 alquil-, C_1-C_4 alcoxi(C_1-C_6 alquil)- o C_3-C_8 cicloalquilo, dicho C_1-C_6 alquilo se sustituye

opcionalmente con halo, CN o hidroxi; o R_7 y R_8, junto con el átomo unido a estos, forman un anillo de 5 o 6 miembros, en donde el anillo se sustituye opcionalmente con halo, hidroxi, CN o C_1-C_6 alquilo; y *n* es 1, 2 o 3. En una forma de realización particular, la invención proporciona el compuesto en donde R_2 es $-(CH_2)_n$-W, en donde W es ciano, y *n* es 1, 2 o 3.

La invención también proporciona un compuesto que tiene la estructura (If):



(If)

o una sal de aquel aceptable desde el punto de vista farmacéutico, o un solvato aceptable desde el punto de vista farmacéutico del compuesto o de la sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico, en donde: R'' es H, $-COR_6$, $-CONR_7R_8$, C_1-C_6 alquil- o hidroxi(C_1-C_6 alquil)-; R_5 es H, amino, C_1-C_6 alquil- o hidroxi(C_1-C_6 alquil)-; R_6, R_7 y R_8 son, cada uno independientemente, H, C_1-C_6 alquil-, C_1-C_4 alcoxi(C_1-C_6 alquil)- o C_3-C_8 cicloalquilo, en donde C_1-C_6 alquilo se sustituye opcionalmente con halo, CN o hidroxi; o R_7 y R_8, junto con el átomo unido a estos, forman un anillo de 5 o 6 miembros, en donde el anillo se sustituye opcionalmente con halo, hidroxi, CN o C_1-C_6 alquilo; y *n* es 0, 1, 2 o 3. En una forma de realización particular, la invención proporciona el compuesto en donde R'' es C_1-C_6 alquilo. En otra forma de realización particular, la invención proporciona el compuesto en donde R'' es metilo.

En algunas formas de realización preferidas, la invención proporciona un compuesto seleccionado del grupo que consiste en:

(1r,3r)-3-(4-(6-(3-amino-1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-3-(cianometil)ciclobutan-1-carbonitrilo;

2,2'-(3-(4-(6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)azetidin-1,3-diil)diacetonitrilo;

2-((1s,3r)-1-(4-(6-(5-(hidroximetil)-1H-pirazol-3-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-3-metoxiciclobutil)acetonitrilo;

5-(4-(1-((1s,3r)-1-(cianometil)-3-metoxiciclobutil)-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-

a]pirazin-6-il)-1H-pirazol-3-carboxamida;

(1s,3s)-3-(cianometil)-3-(4-(6-(5-(hidroximetil)isoxazol-3-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutan-1-carbonitrilo;

(1r,3r)-3-(cianometil)-3-(4-(6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutan-1-carbonitrilo;

(1s,3s)-3-(cianometil)-3-(4-(6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutan-1-carbonitrilo;

(1r,3r)-3-(cianometil)-3-(4-(3-metil-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutan-1-carbonitrilo;

2-((1r,3s)-1-(4-(6-(3-amino-1H-pirazol-5-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-3-metoxiciclobutil)acetonitrilo;

(1r,3r)-3-(cianometil)-3-(4-(6-(1-(hidroximetil)-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutan-1-carbonitrilo; y

2-(1-etil-3-(4-(6-(5-(hidroximetil)-1H-pirazol-3-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)azetidin-3-il)acetonitrilo, o una sal de aquel aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

En una forma de realización determinada, la invención proporciona un compuesto que es (1r,3r)-3-(4-(6-(3-amino-1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-3-(cianometil)ciclo-butan-1-carbonitrilo o una sal de este aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

En una forma de realización determinada, la invención proporciona un compuesto que es 2,2'-(3-(4-(6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)azetidin-1,3-diil)diacetonitrilo o una sal de este aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

En una forma de realización determinada, la invención proporciona un compuesto que es 2-((1s,3r)-1-(4-(6-(5-(hidroximetil)-1H-pirazol-3-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-3-metoxiciclo-butil)acetonitrilo o una sal de este aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

En una forma de realización determinada, la invención proporciona un compuesto que es 5-(4-(1-((1s,3r)-1-(cianometil)-3-metoxiciclobutil)-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-6-il)-1H-pirazol-3-carboxamida o una sal de este aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

En una forma de realización determinada, la invención proporciona un compuesto que es (1s,3s)-3-(cianometil)-3-(4-(6-(5-(hidroximetil)isoxazol-3-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutan-1-carbonitrilo o una sal de este

aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

En una forma de realización determinada, la invención proporciona un compuesto que es (1r,3r)-3-(cianometil)-3-(4-(6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutan-1-carbonitrilo o una sal de este aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

En otra forma de realización determinada, la invención proporciona un compuesto que es (1s,3s)-3-(cianometil)-3-(4-(6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutan-1-carbonitrilo o una sal de este aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

Aun en otra forma de realización, la invención proporciona un compuesto que es (1r,3r)-3-(cianometil)-3-(4-(3-metil-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutan-1-carbonitrilo o una sal de este aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

En otra forma de realización determinada, la invención proporciona un compuesto que es 2-((1r,3s)-1-(4-(6-(3-amino-1H-pirazol-5-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-3-metoxiciclobutil)acetonitrilo o una sal de este aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

En otra forma de realización determinada, la invención proporciona un compuesto que es 2-(1-etil-3-(4-(6-(5-(hidroximetil)-1H-pirazol-3-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)azetidin-3-il)acetonitrilo o una sal de este aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

La invención también proporciona una composición farmacéutica o veterinaria que comprende un compuesto de la Fórmula I and Ia-f, o una sal de este aceptable desde el punto de vista farmacéutico, y un portador aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

La invención también proporciona un método para el tratamiento de una enfermedad o afección para la cual se indica un inhibidor de Tyk2, en un sujeto que necesita ese tratamiento, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la Fórmula I o Ia-f, o una sal de este aceptable desde el punto de vista farmacéutico, o un solvato aceptable desde el punto de vista farmacéutico del compuesto o de la sal.

La invención también proporciona un método para tratar o prevenir un trastorno o una afección seleccionados de rinitis alérgica, congestión nasal, rinorrea, rinitis perenne, inflamación nasal, asma de todo tipo, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, broncoconstricción crónica o aguda, bronquitis crónica, obstrucción de las vías

respiratorias pequeñas, enfisema, neumonía eosinofílica crónica, síndrome de dificultad respiratoria en adultos, exacerbación de la hiperreactividad de las vías respiratorias como consecuencia de otro tratamiento farmacológico, enfermedad vascular pulmonar, hipertensión arterial pulmonar, lesión pulmonar aguda, bronquiectasia, sinusitis, conjuntivitis alérgica, fibrosis pulmonar idiopática o dermatitis atópica, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la Fórmula I y Ia-f, o una sal de este aceptable desde el punto de vista farmacéutico, o un solvato aceptable desde el punto de vista farmacéutico del compuesto o de la sal.

La invención también proporciona un método para tratar la cirrosis biliar primaria que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la Fórmula I o Ia-f, o una sal de este aceptable desde el punto de vista farmacéutico, o un solvato aceptable desde el punto de vista farmacéutico del compuesto o de la sal.

La invención también proporciona un método para tratar una enfermedad o afección seleccionada de inflamación, enfermedad autoinmunitaria, lupus eritematoso sistémico, nefritis lúpica, lupus discoide, lupus cutánea, lupus del sistema nervioso central, artritis reumatoide, artritis psoriásica, enfermedad intestinal inflamatoria, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, asma, asma alérgica, diabetes tipo I, polimiositis, dermatomiositis, interferonopatías tipo I que incluyen síndrome de Aicardi–Goutières y otras enfermedades mendelianas de sobrexpresión del interferón tipo I, esclerosis múltiple, esclerosis múltiple progresiva primaria, esclerosis múltiple remitente-recidivante, cirrosis biliar primaria también denominada colangitis biliar primaria, colangitis esclerosante primaria, hepatitis autoinmunitaria, hepatopatía grasa no alcohólica, esteatohepatitis no alcohólica, psoriasis, dermatomiositis, escleroderma, dermatitis atópica, vitíligo, alopecia areata, espondilopatía, espondilitis anquilosante, enfermedad de Alzheimer, neuroinflamación, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la Fórmula I o Ia-f, o una sal de este aceptable desde el punto de vista farmacéutico, o un solvato aceptable desde el punto de vista farmacéutico del compuesto o de la sal.

La invención también proporciona un método para tratar los síntomas de enfermedad inflamatoria o autoinmunitaria, que incluyen prurito y fatiga.

En algunas formas de realización, la cantidad terapéuticamente eficaz que se usa de acuerdo con el método es de 0,01 mg/kg de peso corporal/día a 100 mg/kg de peso corporal/día. En algunas otras formas de realización, la cantidad terapéuticamente eficaz que se usa de acuerdo con el método es de 0,1 mg/kg de peso

corporal/día a 10 mg/kg de peso corporal/día.

Los compuestos de la invención que tienen la misma fórmula molecular, pero que difieren en cuanto a la naturaleza o la secuencia de fijación de sus átomos o la disposición de sus átomos en el espacio se denominan "isómeros". Los isómeros que difieren en cuanto a la disposición de sus átomos en el espacio se denominan "estereoisómeros". Las personas del oficio de nivel medio comprenderán que el compuesto de la Fórmula I puede existir como diastereómeros aquirales cis y trans.

Los compuestos descritos incluyen todos los isómeros (por ejemplo, *cis, trans* o diastereómeros) de los compuestos descritos en la presente solos o en cualquier mezcla. Todas estas formas, que incluyen enantiómeros, diastereómeros, *cis, trans, syn, anti*, solvatos (incluso hidratos), tautómeros y sus mezclas están incluidas en los compuestos descritos. Las mezclas estereoisoméricas, por ejemplo, mezclas de diastereómeros, se pueden separar en sus isómeros correspondientes de la manera conocida mediante métodos de separación adecuados. Las mezclas diastereoméricas, por ejemplo, se pueden separar en sus diastereómeros individuales mediante cristalización fraccionada, cromatografía, distribución del solvente y procedimientos similares. Esta separación se puede producir al nivel de uno de los compuestos de inicio o en un compuesto de la Fórmula I. Los enantiómeros se pueden separar mediante la formación de sales diastereoméricas, por ejemplo, mediante la formación de sales con un enantiómero-ácido quiral puro, o mediante cromatografía, por ejemplo, HPLC, usando sustratos cromatográficos con ligandos quirales. La presente invención incluye todos los compuestos de la Fórmula I etiquetados de manera isotópica aceptables desde el punto de vista farmacéutico, en donde uno o más átomos se reemplazan por átomos que tienen el mismo número atómico, pero una masa atómica o un número de masa atómico diferentes de la masa atómica o del número de masa atómico que predomina en la naturaleza.

Los ejemplos de isótopos adecuados para la inclusión en los compuestos de la invención incluyen isótopos de hidrógeno, tales como ^{2}H y ^{3}H, de carbono, tal como ^{11}C, ^{13}C y ^{14}C, de cloro, tal como ^{36}Cl, de flúor, tal como ^{18}F, de yodo, tal como ^{123}I e ^{125}I, de nitrógeno, tal como ^{13}N y ^{15}N, de oxígeno, tal como ^{15}O, ^{17}O y ^{18}O, de fósforo, tal como ^{32}P, y de azufre, tal como ^{35}S.

Determinados compuestos de la Fórmula I etiquetados de manera isotópica, por ejemplo, aquellos que incorporan un isótopo radiactivo, son útiles en estudios de distribución de tejido en sustratos y/o fármacos. Los isótopos radiactivos tritio, es decir, ^{3}H, y carbono-14, es decir, ^{14}C, son particularmente útiles para esta finalidad debido a

su sencilla incorporación y medio de detección.

La sustitución con isótopos más pesados, tales como deuterio, es decir, ^{2}H, puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas que son el resultado de una mayor estabilidad metabólica, por ejemplo, mayor semivida *in vivo* o menos requisitos de dosificación y, por ello, se pueden preferir en algunas circunstancias. La sustitución con isótopos emisores de positrones, tales como ^{11}C, ^{18}F, ^{15}O y ^{13}N, puede ser útil en estudios de tomografía por emisión de positrones (PET) para evaluar la ocupación del receptor de sustrato. En general, los compuestos de la Fórmula I etiquetados de manera isotópica se pueden preparar mediante técnicas convencionales conocidas por las personas del oficio de nivel medio o mediante procesos análogos a los descritos en los Ejemplos y Preparaciones adjuntos mediante el uso de reactivos adecuados etiquetados de manera isotópica en lugar de los reactivos no etiquetados que se usaron previamente.

En el uso terapéutico para el tratamiento de trastornos en un mamífero, se puede administrar un compuesto de la presente invención o sus composiciones farmacéuticas por vía oral, parenteral, tópica, rectal, transmucosal o intestinal. La administración parenteral incluye inyecciones indirectas para generar un efecto sistémico o inyecciones directas en el área afectada. La administración tópica incluye el tratamiento de la piel o de órganos a los que se puede acceder con facilidad mediante aplicación local, por ejemplo, ojos u oídos. También incluye el suministro transdérmico para generar un efecto sistémico. La administración rectal incluye la forma de supositorios. Las vías de administración preferidas son la oral y parenteral.

Las sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico de los compuestos de la Fórmula I y Ia-f incluyen sales de adición ácida y básica de estos. Las sales de adición ácida adecuadas se forman de ácidos que forman sales no tóxicas. Los ejemplos incluyen las sales de acetato, adipato, aspartato, benzoato, besilato, bicarbonato/carbonato, bisulfato/sulfato, borato, camsilato, citrato, ciclamato, edisilato, esilato, formiato, fumarato, gluceptato, gluconato, glucuronato, hexafluorofosfato, hibenzato, clorhidrato/cloruro, bromhidrato/bromuro, yodhidrato/yoduro, isetionato, lactato, malato, maleato, malonato, mesilato, metilsulfato, naftilato, 2-napsilato, nicotinato, nitrato, orotato, oxalato, palmitato, pamoato, fosfato/fosfato ácido/fosfato diácido, piroglutamato, sacarato, estearato, succinato, tanato, tartrato, tosilato, trifluoroacetato y xinofoato.

Las sales básicas adecuadas se forman de bases que forman sales no tóxicas. Los ejemplos incluyen sales de aluminio, arginina, benzatina, calcio, colina, dietilamina,

diolamina, glicina, lisina, magnesio, meglumina, olamina, potasio, sodio, trometamina y zinc.

También se pueden formar hemisales de ácidos y bases, por ejemplo, sales de hemisulfato y hemicalcio. Para obtener una reseña de sales adecuadas, véase Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use, de Stahl y Wermuth (Wiley-VCH, 2002).

Las sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico de los compuestos de la Fórmula I y Ia-f se pueden preparar, respectivamente, mediante uno o más de los siguientes tres métodos: (i) se hace reaccionar el compuesto de las Fórmulas I and Ia-f con el ácido o la base deseados; (ii) se elimina un grupo protector lábil en ácido o base, de un precursor adecuado del compuesto de la Fórmula I y Ia-f o se somete a apertura del anillo a un precursor cíclico adecuado, por ejemplo, una lactona o lactama, usando el ácido o la base deseados; o (iii) se convierte una sal del compuesto de la Fórmula I o Ia-f en otra mediante la reacción con un ácido o una base adecuados o mediante una columna de intercambio iónico adecuada. En general, las tres reacciones se realizan en solución. La sal resultante puede precipitar y recolectarse mediante filtración o puede recuperarse mediante la evaporación del solvente. El grado de ionización de la sal resultante puede variar de totalmente ionizada a casi no ionizada.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden fabricar mediante métodos conocidos en el estado de la técnica, por ejemplo, mediante procesos convencionales de mezcla, disolución, granulación, formulación de grageas, levigación, emulsificación, encapsulamiento, atrapamiento, liofilización o secado por pulverización.

Las composiciones farmacéuticas para usar de acuerdo con la presente invención se pueden formular de manera convencional usando uno o más portadores aceptables desde el punto de vista farmacéutico que comprenden excipientes y auxiliares, lo cual facilita el procesamiento del compuesto activo en las preparaciones, que se pueden usar en el ámbito farmacéutico. La formulación adecuada depende de la vía de administración seleccionada. En general, los excipientes y portadores aceptables desde el punto de vista farmacéutico son conocidos por las personas del oficio de nivel medio y, por ende, se incluyen en la presente invención. Estos excipientes y portadores se describen, por ejemplo, en *Remington's Pharmaceutical Sciences*, Mack Pub. Co., Nueva Jersey (1991). Las formulaciones de la invención se pueden diseñar para que sean de acción corta, de liberación rápida, de acción prolongada y de liberación sostenida. Por ello, las formulaciones farmacéuticas también se pueden formular para la liberación controlada o la liberación lenta.

Las composiciones farmacéuticas adecuadas para usar en la presente invención incluyen composiciones en las que los ingredientes activos están contenidos en una cantidad suficiente para lograr la finalidad prevista, es decir, para el control o el tratamiento de trastornos o enfermedades. Más específicamente, una cantidad terapéuticamente eficaz significa una cantidad de compuesto eficaz para prevenir, aliviar o mejorar síntomas/signos de una enfermedad o prolongar la supervivencia del sujeto en tratamiento.

La cantidad de componente activo, que es el compuesto de la presente invención, en la composición farmacéutica y la forma de dosificación unitaria de aquel pueden variar o ajustarse ampliamente según la forma de administración, la potencia del compuesto particular y la concentración deseada. La determinación de una cantidad terapéuticamente eficaz se encuentra dentro de la capacidad de las personas del oficio de nivel medio. En general, la cantidad de componente activo variará de 0,01 % a 99 % en peso de la composición.

En general, una cantidad terapéuticamente eficaz de dosis de componente activo variará de alrededor de 0,01 a alrededor de 100 mg/kg de peso corporal/día, preferentemente, de alrededor de 0,1 a alrededor de 10 mg/kg de peso corporal/día, con mayor preferencia, de alrededor de 0,3 a 3 mg/kg de peso corporal/día, aun con mayor preferencia, de alrededor de 0,3 a 1,5 mg/kg de peso corporal/día. Cabe destacar que las dosis pueden variar según los requerimientos de cada sujeto y la gravedad de los trastornos o las enfermedades que se traten.

La dosis deseada se puede presentar convenientemente como una sola dosis o como dosis divididas administradas en intervalos adecuados, por ejemplo, como 2, 3, 4 o más subdosis por día. A su vez, la subdosis también se puede dividir, por ejemplo, en varias administraciones diferentes poco espaciadas, tales como múltiples inhalaciones de un inhalador o mediante la aplicación de varias gotas en los ojos.

También cabe destacar que la dosis inicial administrada se puede aumentar más allá del nivel superior antes indicado, a fin de lograr rápidamente la concentración plasmática deseada. Por otro lado, la dosis inicial puede ser menor que la óptima, y la dosis diaria se puede aumentar progresivamente durante el curso del tratamiento según cada caso en particular. Si se desea, la dosis diaria también se puede dividir en múltiples dosis para la administración, por ejemplo, de 2 a 4 veces por día.

La presente invención también proporciona cualquiera de los usos, métodos o las composiciones como se definieron anteriormente, en donde el compuesto de la Fórmula I o Ia-f, o una sal de este aceptable desde el punto de vista farmacéutico, o un

solvato aceptable desde el punto de vista farmacéutico del compuesto o de la sal, se usa en combinación con otro compuesto farmacológicamente activo, en particular, una de las clases definidas según su función o los compuestos específicos enumerados a continuación. Estos agentes se pueden administrar como parte de la misma forma de dosificación o de formas de dosificación diferentes, mediante la misma vía de administración o mediante vías de administración diferentes, y en el mismo cronograma de administración o en cronogramas de administración diferentes de acuerdo con la práctica farmacéutica estándar conocida por una persona del oficio de nivel medio.

Los agentes para uso en el tratamiento conjunto con un compuesto de la Fórmula I o Ia-f, o una sal de este aceptable desde el punto de vista farmacéutico, o un solvato aceptable desde el punto de vista farmacéutico del compuesto o de la sal, sulfasalazina, mesalazina, prednisona, azatioprina, infliximab, adalimumab, belimumab, becertolizumab, natalizumab, vedolizumab, hidrocortisona, budesonida, ciclosporina, tacrolimus, fexofenadina, 6-mercaptopurina, metotrexato, ácido ursodesoxicólico, ácido obeticólico, antihistaminas, rifampicina, prednisona, metotrexato, azatioprina, ciclofosfamida, hidroxicloroquina, mofetilo, micofenolato de sodio, tacrolimus, leflunomids, cloroquina y quinacrina, talidomida, rituxan, NSAID, solumedrol, depomedrol y dexametasona.

Otros agentes adecuados para usar en el tratamiento conjunto con un compuesto de la Fórmula I o Ia-f, o una sal de este aceptable desde el punto de vista farmacéutico, o un solvato aceptable desde el punto de vista farmacéutico del compuesto o de la sal, incluyen: un antagonista de la proteína activadora de 5-lipoxigenasa (FLAP); un antagonista de leucotrieno (LTRA), tal como un antagonista de LTB_4, LTC_4, LTD_4, LTE_4, $CysLT_1$ o $CysLT_2$, por ejemplo, montelukast o zafirlukast; un antagonista del receptor de histamina, tal como un antagonista del receptor de histamina tipo 1 o un antagonista del receptor de histamina tipo 2, por ejemplo, loratidine, fexofenadine, desloratidine, levocetirizine, metapirileno o cetirizine; un agonista del α1-adrenoceptor o un agonista del α2-adrenoceptor, por ejemplo, fenilefrina, metoxamina, oximetazolina o metilnorefrina; un antagonista del receptor M3 muscarínico, por ejemplo, tiotropio o ipratropio; un antagonista del receptor M3/β2 muscarínico dual; un inhibidor de PDE, tal como un inhibidor de PDE3, un inhibidor de PDE4 o un inhibidor de PDE5, por ejemplo, teofilina, sildenafil, vardenafil, tadalafil, ibudilast, cilomilast o roflumilast; cromoglicato de sodio o nedocromil de sodio; un inhibidor de ciclooxigenasa (COX), tal como un inhibidor no selectivo (por ejemplo, aspirina o ibuprofeno) o un inhibidor selectivo (por ejemplo, celecoxib o valdecoxib); un glucocorticosteroide, por ejemplo,

fluticasone, mometasone, dexamethasone, prednisolone, budesonide, ciclesonide o beclamethasone; un anticuerpo monoclonal antinflamatorio, por ejemplo, infliximab, adalimumab, tanezumab, ranibizumab, bevacizumab o mepolizumab; un agonista de β2, por ejemplo, salmeterol, albuterol, salbutamol, fenoterol o formoterol, en particular, un agonista de β2 de acción prolongada; un antagonista de integrina, por ejemplo, natalizumab; un inhibidor de moléculas de adhesión, tal como un antagonista de VLA-4; un antagonista del receptor de cinina B_1 o B_2; un agente inmunodepresor, tal como un inhibidor de la vía de IgE (por ejemplo, omalizumab) o ciclosporine; un inhibidor de la metaloproteasa de la matriz (MMP), tal como un inhibidor de MMP-9 o MMP-12; un antagonista del receptor de taquicinina NK_1, NK_2 o NK_3; un inhibidor de proteasa, tal como un inhibidor de elastasa, quimasa o cateopsina G; un agonista del receptor de adenosina A_{2a}; un antagonista del receptor de adenosina A_{2b}; un inhibidor de uroquinasa; un agonista del receptor de dopamina (por ejemplo, ropinirole), en particular, un agonista del receptor de dopamina D2 (por ejemplo, bromocriptine); un modulador de la vía de NFκB, tal como un inhibidor de IKK; otro modulador de una vía de señalización de citocina, tal como un inhibidor de quinasa JAK, quinasa syk, quinasa p38, quinasa SPHK-1, quinasa Rho, EGF-R o MK-2; un agente mucolítico, mucocinético o antitusivo; un antibiótico; un agente antiviral; una vacuna; una quimiocina; un bloqueador de canal de sodio epitelial (ENaC) o un inhibidor de canal de sodio epitelial (ENaC); un agonista del receptor de nucleótidos, tal como un agonista de P2Y2; un inhibidor de tromboxano; niacina; un inhibidor de 5-lipoxigenasa (5-LO), por ejemplo, Zileuton; un factor de adhesión, tal como VLAM, ICAM o ELAM; un antagonista del receptor de CRTH2 (DP_2); un antagonista del receptor de prostaglandina D_2 (DP_1); un inhibidor de la sintasa de prostaglandina D2 hematopoyética (HPGDS); interferón-β; un receptor soluble de TNF humano, por ejemplo, Etanercept; un inhibidor de HDAC; un inhibidor gamma de fosfoinosítido 3-quinasa (PI3Kγ); un inhibidor delta de fosfoinosítido 3-quinasa (PI3Kδ); un antagonista del receptor de CXCR-1 o CXCR-2; un inhibidor de IRAK-4; y un inhibidor de TLR-4 o TLR-9, que incluye las sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico de los compuestos específicamente nombrados y los solvatos aceptables desde el punto de vista farmacéutico de dichos compuestos y sales específicamente nombrados.

En consecuencia, la invención proporciona métodos para el tratamiento o la prevención de una enfermedad, una afección o un trastorno asociados a JAK en un sujeto, tal como un mamífero humano o no humano, que comprenden administrar al sujeto una cantidad eficaz de uno o más compuestos descritos en la presente. Los

sujetos adecuados que se pueden tratar incluyen animales domésticos o salvajes, animales de compañía, tales como perros, gatos, caballos y similares; ganado, que incluye vacas y otros rumiantes, cerdos, aves de corral, conejos y similares; primates, por ejemplo, monos, tales como *Macaca mulatta* y *Macaca fascicularis* (también conocidos como cangrejeros o de cola larga), monos tití, tamarinos, chimpancés, macacos y similares; y roedores, tales como ratas, ratones, jerbos, cobayos y similares. En una forma de realización, el compuesto se administra en una forma aceptable desde el punto de vista farmacéutico, opcionalmente en un portador aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

Las afecciones en las que se considera que el direccionamiento selectivo de la vía de JAK o la modulación de las quinasas JAK, en particular TYK2, es terapéuticamente útil incluyen, entre otros, artritis, asma, enfermedades autoinmunitarias, cáncer o tumores, diabetes, ciertas enfermedades, trastornos o afecciones oculares, inflamación, inflamaciones intestinales, alergias o afecciones, enfermedades neurodegenerativas, psoriasis y rechazo al trasplante. Las afecciones que se pueden beneficiar de la inhibición selectiva de TYK2 se analizan en más detalle a continuación.

En consecuencia, el compuesto de las Fórmulas I o Ia-f, o sus sales y solvatos aceptables desde el punto de vista farmacéutico, y las composiciones farmacéuticas de aquellos se pueden usar para el tratamiento de varias afecciones o enfermedades, tales como las siguientes:

Artritis, que incluye artritis reumatoide, artritis juvenil y artritis psoriásica;

Las enfermedades o los trastornos autoinmunitarios o inflamatorios, por ejemplo, tiroiditis de Hashimoto, anemia hemolítica autoinmunitaria, gastritis atrófica autoinmunitaria de anemia perniciosa, encefalomielitis autoinmunitaria, orquitis autoinmunitaria, enfermedad de Goodpasture, trombocitopenia autoinmunitaria, oftalmia simpática, miastenia grave, enfermedad de Graves, cirrosis biliar primaria, hepatitis autoinmunitaria, colangitis esclerosante primaria, hepatitis agresiva crónica, hepatopatía grasa no alcohólica, esteatohepatitis no alcohólica, colitis ulcerosa y glomerulopatía membranosa, lupus eritematosa sistémica, artritis reumatoide, artritis psoriásica, síndrome de Sjogren, síndrome de Reiter, polimiositis, dermatomiositis, interferonopatías tipo I que incluyen síndrome de Aicardi–Goutières y otras enfermedades mendelianas de sobrexpresión de interferón tipo I, esclerosis sistémica, poliarteritis nodosa, esclerosis múltiple, esclerosis múltiple remitente-recidivante, esclerosis múltiple progresiva primaria, esclerosis múltiple progresiva secundaria y

penfigoide ampolloso, y enfermedades autoinmunitarias adicionales, que pueden ser de linfocitos B (humorales) o linfocitos T, que incluyen síndrome de Cogan, espondilitis anquilosante, granulomatosis de Wegener, alopecia autoinmunitaria, diabetes tipo I o juvenil, o tiroiditis;

Tipos de cáncer o tumores, que incluyen cáncer del tubo digestivo/tracto gastrointestinal, cáncer de colon, cáncer de hígado, cáncer de piel que incluye mastocitoma y carcinoma de células escamosas, cáncer de mama, cáncer de ovarios, cáncer de próstata, linfoma, leucemia, que incluye leucemia mielógena aguda y leucemia mielógena crónica, cáncer de riñón, cáncer pulmonar, cáncer muscular, cáncer óseo, cáncer de vejiga, cáncer cerebral, melanoma que incluye melanoma oral y metastásico, sarcoma de Kaposi, mielomas que incluyen mieloma múltiple, trastornos mieloproliferativos, retinopatía diabética proliferativa, o trastornos asociados a la angiogénesis, que incluyen tumores sólidos;

Diabetes, que incluye diabetes tipo I o complicaciones derivadas de la diabetes;

Enfermedades, trastornos o afecciones oculares, que incluyen enfermedades autoinmunitarias de los ojos, queratoconjuntivitis, conjuntivitis vernal, uveitis que incluye uveitis asociada a la enfermedad de Behcet y uveitis inducida por las lentes de contacto, queratitis, queratitis herpética, queratitis cónica, distrofia epitelial corneal, queratoleucoma, pénfigo ocular, úlcera de Mooren, escleritis, oftalmopatía de Grave, síndrome de Vogt-Koyanagi-Harada, queratoconjuntivitis seca (ojo seco), flictenulosis, iridociclitis, sarcoidosis, oftalmopatía endócrina, oftalmía simpática, conjuntivitis alérgica o neovascularización ocular;

Inflamaciones intestinales que incluyen enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, enfermedad intestinal inflamatoria, enfermedades celíacas, proctitis, gastroenteritis eosinofílica o mastocitosis;

Enfermedades neurodegenerativas que incluyen enfermedad de la motoneurona, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica, enfermedad de Huntington, isquemia cerebral o enfermedades neurodegenerativas causadas por lesiones traumáticas, apoplejía, neurotoxicidad inducida por glutamato o hipoxia; lesión isquémica/por revascularización en la apoplejía, isquemia miocárdica, isquemia renal, infarto de miocardio, hipertrofia cardíaca, ateroesclerosis y arteriosclerosis, hipoxia orgánica o agregabilidad plaquetaria;

Enfermedades cutáneas, afecciones o trastornos que incluyen dermatitis atópica, eccema, psoriasis, esclerodermia, prurito u otras afecciones pruríticas, vitíligo, alopecia;

Las reacciones alérgicas incluyen dermatitis alérgica en mamíferos (lo que incluye enfermedades alérgicas en equinos, tales como hipersensibilidad a las mordidas), eccema estival, alergia a las picaduras de culicoides en los caballos, obstrucción recurrente de las vías aéreas en los caballos, enfermedad inflamatoria de las vías aéreas, obstrucción recurrente de las vías aéreas, hiperreactividad de las vías aéreas o enfermedad pulmonar obstructiva crónica;

Asma y otras enfermedades obstructivas de las vías aéreas, que incluyen asma crónico o inveterado, asma tardío, bronquitis, asma bronquial, asma alérgico, asma intrínseco, asma extrínseco o asma por polvo;

Rechazo al trasplante, que incluye rechazo al trasplante de islotes pancreáticos, rechazo al trasplante de médula ósea, enfermedad del injerto contra el huésped, rechazo al trasplante de órganos y células, tales como médula ósea, cartílago, córnea, corazón, disco intervertebral, islote, riñón, miembros, hígado, pulmón, músculos, mioblasto, nervios, páncreas, piel, intestino delgado o tráquea, o xenotrasplante.

Síntesis química

La persona del oficio de nivel medio comprenderá que las condiciones experimentales indicadas en los siguientes esquemas son ilustrativas de las condiciones adecuadas para realizar las transformaciones que se muestran, y que puede ser necesario o conveniente variar las condiciones precisas que se usan para la preparación de los compuestos de la Fórmula (I). También se tendrá en cuenta que puede ser necesario o conveniente realizar las transformaciones en un orden diferente del descrito en los esquemas o modificar una o más de las transformaciones para obtener el compuesto deseado de la invención.

Todos los derivados de la Fórmula (I) se pueden preparar mediante los procedimientos descritos en los métodos generales que se indican a continuación o mediante modificaciones rutinarias de estos. La presente invención también abarca uno o más de estos procesos para preparar los derivados de la Fórmula (**I**), además de cualquier intermediario nuevo que se use en la presente. La persona del oficio de nivel medio apreciará que las siguientes reacciones se pueden calentar de manera térmica o en irradiación en microondas.

También se tendrá en cuenta que puede ser necesario o conveniente realizar las transformaciones en un orden diferente del descrito en los esquemas o modificar una o más de las transformaciones para obtener el compuesto deseado de la invención.

Las siguientes vías, que incluyen las mencionadas en los ejemplos y las preparaciones, ilustran métodos para sintetizar compuestos de la Fórmula (I). La

persona del oficio de nivel medio comprenderá que los compuestos de la invención, y sus intermediarios, se pueden obtener mediante métodos diferentes a los que se describen específicamente en la presente, por ejemplo, mediante la adaptación de los métodos descritos en la presente, por ejemplo, mediante los métodos conocidos en el estado de la técnica. Las guías adecuadas de síntesis, interconversiones de grupos funcionales, uso de grupos protectores, etc., son, por ejemplo: “Comprehensive Organic Transformations” de RC Larock, VCH Publishers Inc. (1989); "Advanced Organic Chemistry” de J. March, Wiley Interscience (1985); “Designing Organic Synthesis” de S Warren, Wiley Interscience (1978); “Organic Synthesis – The Disconnection Approach” de S Warren, Wiley Interscience (1982); “Guidebook to Organic Synthesis” de RK Mackie y DM Smith, Longman (1982); “Protective Groups in Organic Synthesis” de TW Greene y PGM Wuts, John Wiley y Sons, Inc. (1999); y “Protecting Groups” de PJ, Kocienski, Georg Thieme Verlag (1994); y cualquier versión actualizada de esos trabajos estándar.

Además, la persona del oficio de nivel medio comprenderá que puede ser necesario o conveniente, en cualquier etapa de la síntesis de los compuestos de la invención, proteger uno o más grupos sensibles a fin de evitar las reacciones secundarias no deseadas. En particular, puede ser necesario o conveniente proteger grupos de ácido carboxílico o amino. Los grupos protectores que se usan en la preparación de los compuestos de la invención se pueden emplear de manera convencional. Véase, por ejemplo, los descritos en 'Greene’s Protective Groups in Organic Synthesis' de Theodora W Greene y Peter G M Wuts, tercera edición, (John Wiley and Sons, 1999), en particular, los capítulos 7 (“Protection for the Amino Group”) y 5 (“Protection for the Carboxyl Group)”, que se incorporan en la presente por referencia, que también describe métodos para retirar esos grupos.

En los siguientes métodos de síntesis general, a menos que se especifique lo contrario, los sustituyentes son como se definieron anteriormente con referencia a los compuestos de la Fórmula (**I**) anterior.

Cuando se indican relaciones de solventes, estas son en volumen.

Los compuestos de la invención se pueden preparar mediante cualquier método conocido en el arte para la preparación de compuestos de estructura análoga. En particular, los compuestos de la invención se pueden preparar mediante los procedimientos descritos con referencia a los siguientes esquemas, mediante los métodos específicos descritos en los ejemplos o mediante procesos similares a estos.

La persona del oficio de nivel medio comprenderá que las condiciones

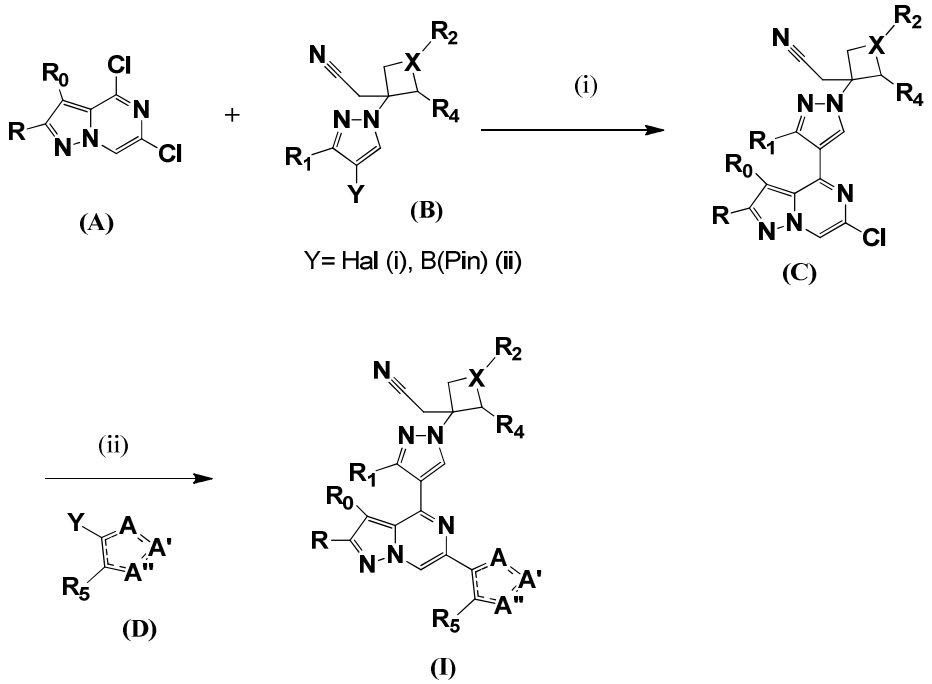
experimentales indicadas en los siguientes esquemas son ilustrativas de las condiciones adecuadas para realizar las transformaciones que se muestran, y que puede ser necesario o conveniente variar las condiciones precisas que se usan para la preparación de los compuestos de la Fórmula (**I**).

Además, la persona del oficio de nivel medio comprenderá que puede ser necesario o conveniente, en cualquier etapa de la síntesis de los compuestos de la invención, proteger uno o más grupos sensibles a fin de evitar las reacciones secundarias no deseadas. En particular, puede ser necesario o conveniente proteger grupos de ácido carboxílico o amino. Los grupos protectores que se usan en la preparación de los compuestos de la invención se pueden emplear de manera convencional. Véase, por ejemplo, los descritos en 'Greene's Protective Groups in Organic Synthesis' de Theodora W Greene y Peter G M Wuts, tercera edición, (John Wiley and Sons, 1999), en particular, los capítulos 7 ("Protection for the Amino Group") y 5 ("Protection for the Carboxyl Group)", que se incorporan en la presente por referencia, que también describe métodos para retirar esos grupos.

Todos los derivados de la Fórmula (I) se pueden preparar mediante los procedimientos descritos en los métodos generales que se indican a continuación o mediante modificaciones rutinarias de estos. La presente invención también abarca uno o más de estos procesos para preparar los derivados de la Fórmula (**I**), además de cualquier intermediario nuevo que se use en la presente. La persona del oficio de nivel medio apreciará que las siguientes reacciones se pueden calentar de manera térmica o en irradiación en microondas.

También se tendrá en cuenta que puede ser necesario o conveniente realizar las transformaciones en un orden diferente del descrito en los esquemas o modificar una o más de las transformaciones para obtener el compuesto deseado de la invención. Los esquemas representan los métodos útiles para sintetizar los compuestos de la presente invención. No limitan el alcance de la invención de manera alguna.

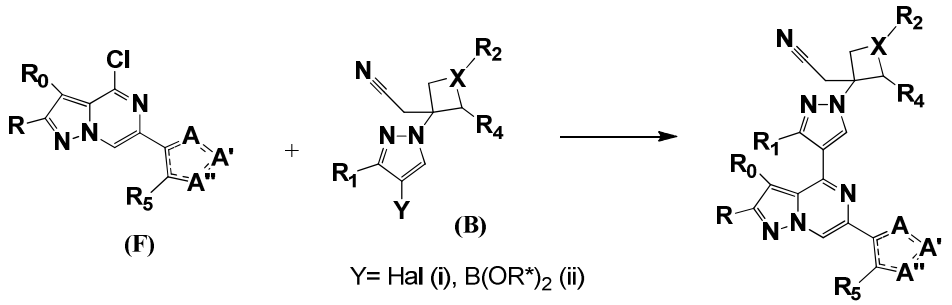
De acuerdo con un primer proceso, los compuestos de la Fórmula I se pueden preparar de los compuestos de las Fórmulas (**A**), (**B**), (**C**) y (**D**), como se ilustra en el **Esquema 1**.



Esquema 1

En el Esquema 1, el compuesto de la Fórmula Bi (en donde Y=Hal) se convierte en un compuesto de la Fórmula Bii ($Y=B(OR^*)_2$) mediante el tratamiento con un boronato adecuado, tal como $B_2(Pin)_2$, en presencia de una base adecuada, tal como K_2CO_3, y un catalizador adecuado, tal como $Pd(dppf)Cl_2$, en un solvente adecuado, tal como dioxano. Una persona del oficio de nivel medio también sabe que se pueden usar estrategias alternativas de acoplamiento organometálico que implican componentes de acoplamiento alternativos, metales y combinaciones de solventes. Un compuesto de la Fórmula Bii se prepara y se aísla como se describió anteriormente o se prepara *in situ* sin aislamiento en una estrategia de acoplamiento cruzado secuencial que una persona del oficio de nivel medio comprende bien. Por ende, un compuesto de la Fórmula Bii se acopla de manera cruzada con un compuesto de la Fórmula A en presencia de un catalizador adecuado, tal como $Pd(dppf)Cl_2$, con una base adecuada, tal como K_2CO_3, en un solvente adecuado, tal como dioxano, a una temperatura adecuada, de temperatura ambiente a temperatura de reflujo. El compuesto resultante de la Fórmula C se acopla de manera cruzada con un compuesto de la Fórmula D que contiene un grupo saliente adecuado, tal como Bu_3Sn o $(Pin)_2B$, con un catalizador de metal adecuado, tal como $Pd(PPh_3)_4$, en un solvente adecuado, tal como MeCN, a temperatura ambiente o a temperaturas elevadas.

De acuerdo con un segundo proceso, un compuesto de la Fórmula I también se puede preparar mediante reacción de acoplamiento cruzado organometálico de compuestos de la Fórmula F con compuestos de la Fórmula B, Esquema 2.

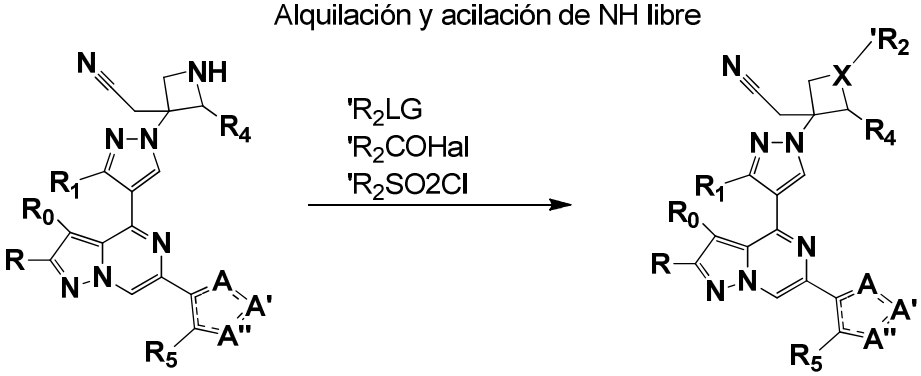


Esquema 2

El compuesto de la Fórmula Bi (en donde Y=Hal) se convierte en un compuesto de la Fórmula Bii ($Y=B(OR^*)_2$) mediante el tratamiento con un boronato adecuado, tal como $B(Pin)_2$, en presencia de una base adecuada, tal como K_2CO_3, y un catalizador adecuado, tal como $Pd(dppf)Cl_2$, en un solvente adecuado, tal como dioxano. Una persona del oficio de nivel medio también sabe que se pueden usar estrategias alternativas de acoplamiento organometálico que implican componentes de acoplamiento alternativos, metales y combinaciones de solventes. Un compuesto de la Fórmula Bii se prepara y se aísla como se describió anteriormente o se prepara *in situ* sin aislamiento en una estrategia de acoplamiento cruzado secuencial que una persona del oficio de nivel medio comprende bien. Por ende, un compuesto de la Fórmula Bii se acopla de manera cruzada con un compuesto de la Fórmula F en presencia de un catalizador adecuado, tal como $Pd(dppf)Cl_2$, con una base adecuada, tal como K_2CO_3, en un solvente adecuado, tal como dioxano, a una temperatura adecuada, de temperatura ambiente a temperatura de reflujo.

De acuerdo con un tercer proceso, el compuesto de la Fórmula I se prepara mediante la alquilación, acilación, sulfonilación, etc., de un compuesto de la Fórmula G, Esquema 3.

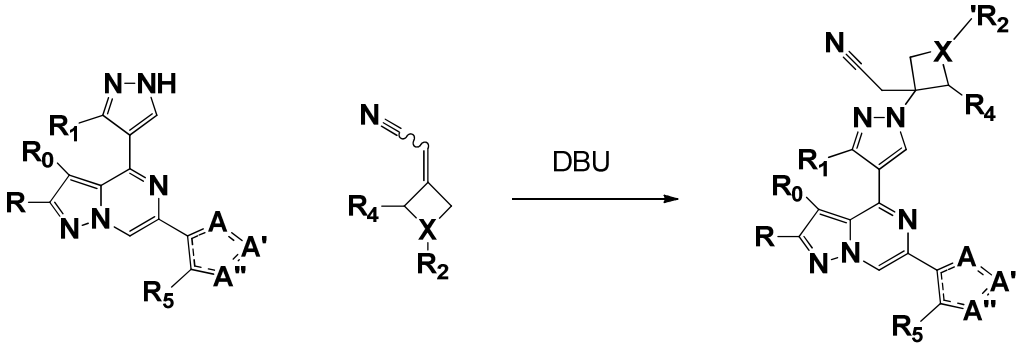
Alquilación y acilación de NH libre



Esquema 3

(G) (I)

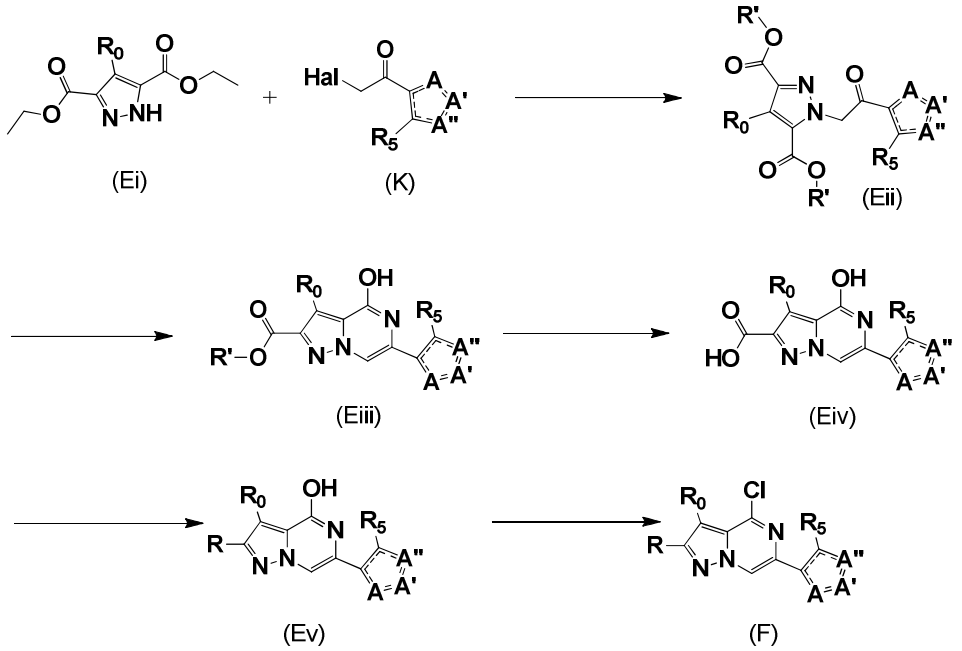
De acuerdo con un cuarto proceso, el compuesto de la Fórmula I se prepara mediante la adición Michael de un compuesto de la Fórmula H con un compuesto de la Fórmula J en presencia de una base no nucleofílica adecuada, tal como DBU, en un solvente adecuado, tal como MeCN, a una temperatura adecuada, Esquema 4.



(H) (J) Esquema 4 (I)

El Esquema 5 ilustra un método para la preparación de compuestos de la Fórmula F. Un diéster de la Fórmula Ei se trata con un agente alquilante de la Fórmula K y una base, tal como K_2CO_3, en un solvente adecuado, tal como MeCN. El diéster resultante de la Fórmula Eii luego se cicliza en presencia de NH_4OAc en un solvente adecuado, tal como EtOH, a temperatura elevada, para obtener el compuesto heterocíclico bicíclico de la Fórmula Eiii. El compuesto de la Fórmula Eiii se hidroliza para obtener un compuesto de la Fórmula Eiv con una base adecuada, tal como LiOH, en un solvente adecuado, tal como MeOH. El ácido carboxílico resultante de la Fórmula Eiv se descarboxila de manera térmica en un solvente adecuado, tal como sulfolano, a temperatura elevada, tal como 280 °C. El compuesto resultante de la Fórmula Ev se clorina mediante tratamiento con un reactivo adecuado, tal como $POCl_3$, en un solvente adecuado, tal como MeCN, a una temperatura adecuada, tal como de reflujo, para

preparar compuestos de la Fórmula F.



Esquema 5

Los siguientes esquemas y descripciones escritas proporcionan detalles generales sobre la preparación de los compuestos de la invención. Los compuestos de la invención se pueden preparar mediante cualquier método conocido en el arte para la preparación de compuestos de estructura análoga. En particular, los compuestos de la invención se pueden preparar mediante los procedimientos descritos con referencia a los siguientes esquemas, mediante los métodos específicos descritos en los ejemplos o mediante procesos similares a estos.

La persona del oficio de nivel medio comprenderá que las condiciones experimentales indicadas en los siguientes esquemas son ilustrativas de las condiciones adecuadas para realizar las transformaciones que se muestran, y que puede ser necesario o conveniente variar las condiciones precisas que se usan para la preparación de los compuestos de la Fórmula (**I**).

Además, la persona del oficio de nivel medio comprenderá que puede ser necesario o conveniente, en cualquier etapa de la síntesis de los compuestos de la invención, proteger uno o más grupos sensibles a fin de evitar las reacciones secundarias no deseadas. En particular, puede ser necesario o conveniente proteger grupos de ácido carboxílico o amino. Los grupos protectores que se usan en la preparación de los compuestos de la invención se pueden emplear de manera convencional. Véase, por ejemplo, los descritos en *Protective Groups in Organic*

Synthesis de Theodora W. Greene y Peter G. M. Wuts, 3.ª edición, (John Wiley and Sons, 1999), en particular, los capítulos 7 ("Protection for the Amino Group") y 5 ("Protection for the Carboxyl Group)", que se incorporan en la presente por referencia, que también describe métodos para retirar esos grupos.

Todos los derivados de la Fórmula I y Ia-f se pueden preparar mediante los procedimientos descritos en los métodos generales que se indican a continuación o mediante modificaciones rutinarias de estos. La presente invención también abarca uno o más de estos procesos para preparar los derivados de la Fórmula (**I**), además de cualquier intermediario nuevo que se use en la presente. La persona del oficio de nivel medio apreciará que las siguientes reacciones se pueden calentar de manera térmica o en irradiación en microondas.

Durante la realización de la síntesis de los compuestos de la invención, una persona del oficio de nivel medio reconocerá la necesidad de analizar y evaluar las mezclas de reacción antes de prepararlas, a fin de controlar el progreso de reacciones y decidir si la reacción debería continuar o si está lista para prepararse y obtener el producto deseado. Los métodos comunes para evaluar las mezclas de reacción incluyen cromatografía de capa delgada (TLC), cromatografía de líquidos/espectroscopía de masa (LCMS) y resonancia magnética nuclear (NMR).

Una persona del oficio de nivel medio también reconocerá que los compuestos de la invención se pueden preparar como mezclas de diastereómeros o isómeros geométricos (por ejemplo, sustitución cis y trans en un anillo de cicloalcano). Estos isómeros se pueden separar mediante técnicas cromatográficas estándares, tales como cromatografía de gel de sílice de fase normal, cromatografía de líquidos de alta resolución de fase inversa o cromatografía de fluido supercrítico. Una persona del oficio de nivel medio también reconocerá que algunos compuestos de la invención son quirales y, por ende, se pueden preparar como mezclas racémicas o escalémicas de enantiómeros. Hay varios métodos disponibles que son conocidos por las personas del oficio de nivel medio para la separación de enantiómeros. Un método preferido para la separación de enantiómeros de rutina es la cromatografía de fluido supercrítico en donde se utiliza una fase estacionaria quiral.

SECCIÓN EXPERIMENTAL

A menos que se indique lo contrario, las reacciones se llevaron a cabo en una atmósfera de nitrógeno. La cromatografía de gel de sílice se llevó a cabo usando gel de sílice de 250-400 mallas con nitrógeno presurizado (~10-15 psi) para guiar el solvente a través de la columna ("cromatografía flash"). Cuando se indicó, las soluciones y mezclas

de reacción se concentraron mediante evaporación giratoria al vacío.

La nomenclatura en la presente patente está escrita como se describe en IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) y usando ChemBioDraw Ultra 13.0, Perkin Elmer, para generar nombres.

Las siguientes preparaciones y ejemplos no limitativos describen la preparación de los compuestos y las sales de la presente invención. En los ejemplos y las preparaciones que se indican a continuación y en los esquemas anteriores, se puede hacer referencia a las siguientes abreviaturas, definiciones y procedimientos analíticos. También se pueden usar otras abreviaturas comunes en el estado de la técnica. Se usó nomenclatura IUPAC estándar.

AcOH es ácido acético;
ac. es acuoso;
Boc es ter-butoxicarbonilo;
br es amplio;
salmuera es una solución saturada de cloruro de sodio en agua;
t-Bu es ter-butilo;
N-BuLi es n-butil litio;
℃ es grados celcius;
Cbz es carbobenciloxi;
$CDCl_3$ es deutero-cloroformo;
CDI es 1,1'-carbonildiimidazol;
conc. es concentrado (en referencia a reactivos);
Cs_2CO_3 es carbonato de cesio;
δ es desplazamiento químico;
d es doblete;
DBU es 1,8-diazabiciclo[5.4.0]undec-7-eno;
DCM es diclorometano;
DHP es 3,4-dihidro-2H-pirano;
DIPEA es N,N-diisopropiletilamina;
DMAP es 4-dimetilaminopiridina;
DMF es N,N-dimetilformamida;
DMSO es sulfóxido de dimetilo;
Et_2O es dietiléter;
EtOAc es acetato de etilo;

EtOH es etanol;

$(EtO)_2P(O)CH2CN$ es (cianometil)fosfonato de dietilo;

g es gramo;

GCMS es cromatografía de gases-espectrometría de masa

HCl es ácido clorhídrico;

HCO_2H es ácido fórmico;

HPLC es cromatografía de líquidos de alto rendimiento;

h es horas;

H_2SO_4 es ácido sulfúrico;

K_2CO_3 es carbonato de potasio;

KH_2PO_4 es dihidrogenofosfato de potasio

K_2HPO_4 es monohidrogenofosfato de potasio;

K_3PO_4 es fosfato de potasio (tribásico);

KOAc es acetato de potasio

L es litro;

LCMS es cromatografía de líquidos-espectrometría de masa;

LiBr es bromuro de litio;

LiOH es hidróxido de litio;

m es multiplete;

M es molar;

MeCN es acetonitrilo;

MeOH es metanol;

mg es miligramo;

$MgSO_4$ es sulfato de magnesio;

MHz es megaHertz;

min es minutos;

ml es mililitro;

mmol es milimol;

mol es moles;

MS m/z es pico iónico de espectro de masa;

MTBE es metil t-butiléter

$NaBH(OAc)_3$ es triacetoxiborohidruro de sodio;

Na_2CO_3 es carbonato de sodio;

$NaHCO_3$ es hidrogenocarbonato de sodio;

NaH_2PO_4 es dihidrogenofosfato de sodio;

Na_2HPO_4 es monohidrogenofosfato de sodio;

NaI es yoduro de sodio;

$NaIO_4$ es periodato de sodio;

NaOAc es acetato de sodio;

NaOCl es hipoclorito de sodio;

NaOH es hidróxido de sodio;

NH_3 es amoníaco;

NH_4Cl es cloruro de amonio;

NH_4OH es hidróxido de amonio;

NH_4OAc es acetato de amonio;

NMR es resonancia magnética nuclear;

OsO_4 es tetróxido de osmio;

Pd/C es paladio sobre carbón;

$Pd(dppf)Cl_2$ es 1,1-bis(difenilfosfino)ferroceno paladio(II)dicloruro (CAS: 72287-26-4);

$Pd(dppf)Cl_2.DCM$ es 1,1-bis(difenilfosfino)ferroceno paladio(II)dicloruro; complejo con diclorometano (CAS: 95464-05-4);

$Pd(OAc)_2$ es acetato de paladio;

$Pd(PPh_3)_4$ es tetrakis(trifenilfosfina)paladio;

PMB-Cl es cloruro de (4-metoxi)bencilo;

$POCl_3$ es oxicloruro de fósforo(V);

ppm es partes por millón;

psi es libra por pulgada cuadrada;

PTSA es ácido para-toluensulfónico

$PyHBr_3$ es perbromuro de piridina bromhidrato

PyHCl es piridina clorhidrato

q es cuarteto;

Rt es tiempo de retención;

$Rh_2(OAc)_4$ es dímero de acetato de rodio (II);

$RuCl_3$ hidrato es cloruro de rutenio(II) hidrato;

s es singulete;

$SOCl_2$ es cloruro de tionilo;

t es triplete;

TBAB es bromuro de tetrabutilamonio

TEA es trietilamina;

TFA es ácido trifluoroacético;

THF es tetrahidrofurano;
TMSCl es clorotrimetilsilano;
µl es microlitro;
µmol es micromol
XPhos Pd G2 es cloro(2-diciclohexilfosfino-2′,4′,6′-triisopropil-1,1′-bifenil)[2-(2′-amino-1,1′-bifenil)]paladio(II); CAS 1310584-14-5.

Los espectros de resonancia magnética nuclear (NMR) ^{1}H fueron, en todos los casos, coherentes con las estructuras propuestas. Los desplazamientos químicos característicos (δ) se expresan en partes por millón campo abajo (downfield) con respecto al tetrametilsilano, usando abreviaturas convencionales para la designación de picos importantes: por ejemplo, s, singulete; d, doblete; t, triplete; q, cuarteto; m, multipleto; br, amplio. Se usaron las siguientes abreviaturas para los solventes de RMN comunes: CD_3CN, deuteroacetonitrilo; $CDCl_3$, deuterocloroformo; DMSO-d_6, deuterodimetilsulfóxido; y CD_3OD, deuterometanol. Cuando sea adecuado, los tautómeros se pueden registrar dentro de los datos de RMN; y algunos protones intercambiables pueden no estar visibles.

Los espectros de masa se registraron usando ionización por impacto electrónico (EI), ionización por electrospray (ESI) o ionización química a presión atmosférica (APCI). Los iones observados se informan como MS m/z y pueden ser iones positivos del compuesto $[M]^+$, compuesto más un protón $[MH]^+$ o compuesto más un ion de sodio $[MNa]^+$. En algunos casos, los únicos iones observados pueden ser iones fragmentados informados como $[MH\text{-(fragmento perdido)}]^+$. En donde sea relevante, los iones informados se asignan para isótopos de cloro (^{35}Cl y/o ^{37}Cl), bromo (^{79}Br y/o ^{81}Br) y estaño (^{120}Sn).

En donde su usó cromatografía, TLC o HPLC para purificar compuestos, una persona del oficio de nivel medio puede elegir cualquier solvente o combinación de solventes adecuados para purificar el compuesto deseado. Las separaciones cromatográficas (que excluyen HPLC) se llevaron a cabo usando gel de sílice como adsorbente a menos que se indique lo contrario.

Todas las reacciones se llevaron a cabo usando agitación continua en una atmósfera de gas de nitrógeno o argón, a menos que se indique lo contrario. En algunos casos, las reacciones se purgaron con gas de nitrógeno o argón antes del inicio de la reacción. En estos casos, el gas de nitrógeno o argón se hizo burbujear a través de la fase líquida de la mezcla durante el tiempo aproximado especificado. Los solventes utilizados eran de grados anhidros comerciales. Todos los materiales de inicio eran

productos disponibles en el comercio. En algunos casos, se proporciona el número de identificación de Chemical Abstracts Service (CAS) para mayor claridad. En algunos casos, los materiales de inicio se prepararon de acuerdo con procedimientos de la literatura informada que se indican con un asterisco (*). Será evidente para una persona del oficio de nivel medio que la palabra "concentrado", como se usa en la presente, se refiere generalmente a la práctica de la evaporación de solvente a presión reducida, que se suele lograr con el uso de un evaporador giratorio.

Condiciones de GCMS

Columna: 12m x 0,2mm, HP-1 de metil siloxano, película de 0,33 µm, flujo de columna de 1,0 ml/min.

Métodos: 7,6 min: Temp. de horno inicial 105 °C; mantenimiento de 0,1 min; aumento de 30 °C/min hasta el criterio de valoración de 300 °C después de 7,6 min; o 7,6 min: Temp. de horno inicial 60 °C; mantenimiento de 0,1 min; aumento de 40 °C/min hasta el criterio de valoración de 320 °C después de 7,6 min; o 5,1 min: Temp. de horno inicial 40 °C; mantenimiento de 0,1min; aumento de 30 °C/min hasta el criterio de valoración de 150 °C después de 5,1 min:

Parámetros de entrada de GC: Entrada frontal, split 30:1, He, 8 psi de presión, inyector a 250 °C, flujo total de 33,9 ml/min.

Sintonía de MSD: Temp. de fuente de 230 °C, temp. de quad de 150 °C, temperatura de aux 2 de 280 °C

Volumen de inyección: 1,0 µl

Componentes del sistema: Horno Agilent 5890 GC con detector selectivo de masas Agilent 5973

Condiciones de LCMS

Ácida: Waters Acquity HSS T3, 2,1 mm x 50 mm, C18, 1,7 µm; temperatura de columna 60 °C

Base: Waters Acquity UPLC BEH, 2,1 mm x 50 mm, C18, 1,8 µm; temperatura de columna 60 °C

Fase móvil: A: 0,1 % de ácido fórmico en agua (v/v); fase móvil B: 0,1% de ácido fórmico en acetonitrilo (v/v).

Fase móvil A: 0,1 % de amoníaco en agua (v/v); fase móvil B: 0,1 % de amoníaco en acetonitrilo (v/v)

Perfiles de gradientes: Corrida de 1,5 min: Condiciones iniciales: A-95 %:B-5 %; mantenimiento en el inicio de 0,0-0,1 min; rampa lineal a A-5 %:B-95 % durante 0,1-1,0 min; retención a A-5 %:B-95 % de 1,0-1,1 min; regreso a las condiciones iniciales 1,1-

1,5 min

Métodos de purificación (PM)

Los compuestos de los ejemplos se purificaron de acuerdo con uno de los métodos de purificación (PM) a los que se hace referencia a continuación, a menos que se describa lo contrario:

Método de purificación A: HPLC preparativa usando [Agella venusil ASB C18 150 x 21,2 mm x 5 µm, de 16 % de MeCN en agua (0,225 % de ácido fórmico) a 36 % de MeCN en agua (0,225 % de ácido fórmico)]

Método de purificación B: HPLC preparativa usando [Phenomenex Gemini C18 250 x 21,2 mm x 8 um o 150 mm x 25 mm x 5 µm; de 16-55 % de MeCN en agua (0,1 % de amoníaco) a 36-60 % de MeCN en agua (0,1 % de amoníaco)]

Método de purificación C: [YMC -Actus Triart C18 150 x 30 µm, de 24 % de MeCN en agua (0,1 % de amoníaco) a 44 % de MeCN en agua (0,1 % de amoníaco)]

Método de purificación D: HPLC preparativa usando [Phenomenex Gemini C18 250 x 21,2 mm x 8 µm, de 25 % de MeCN en agua (amoníaco a pH=10) a 45 % de MeCN en agua (amoníaco a pH=10)], y luego cromatografía quiral usando columna de I.D. AS 250 x 25 mm de 20 µM, con CO_2 supercrítico: EtOH o IPA (0,05 % de amoníaco acuoso) 70:30 a 50-80 ml/min

Método de purificación E: HPLC preparativa usando [Phenomenex Gemini C18 250 x 21,2 mm x 8 µm, de 25 % de MeCN en agua (0,225 % de amoníaco) a 45 % de MeCN en agua (0,225 % de amoníaco), y luego cromatografía quiral usando columna AD de 250 mm x 30 mm x 20 µm con fase móvil A: CO_2 y fase móvil B: MeOH con 0,1 % de amoníaco A:B 50:50 a 180 ml/min

Método de purificación F: Cromatografía en columna de gel de sílice que se eluyó con 100 % de DCM a 12 % de MeOH con 1 % de NH_4OH.

Método de purificación G: Cromatografía en columna de gel de sílice que se eluyó con 97:2:1 DCM:MeOH:NH_3, luego HPLC preparativa.

Método de purificación H: HPLC preparativa usando la columna: Waters XBridge C18 19 mm x 100 mm, 5 µ; fase móvil A: 0,03% de hidróxido de amonio en agua (v/v); fase móvil B: 0,03 % de hidróxido de amonio en acetonitrilo (v/v); de 5-20 % de B a 40-100 % de B a una velocidad de flujo de 25 ml/min.

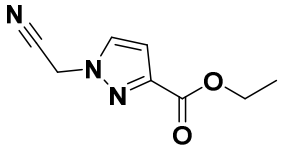
Método de purificación I: HPLC preparativa usando la columna: Waters Sunfire C18 19 mm x 100 mm, 5 µ; fase móvil A: 0,05% de TFA en agua (v/v); fase móvil B: 0,05 % de TFA en acetonitrilo (v/v); de 20 % de B a 40 % de B a 6,75 minutos, luego a 100 % de B después de 7 minutos a una velocidad de flujo de 30 ml/min.

Rotación específica

Las rotaciones específicas se basan en la ecuación [α] = (100·α)/(l·c) y se informan como números sin unidades en donde la concentración c es en g/l00 ml, y la longitud de vía l es en decímetros. Las unidades de la rotación específica, (deg·ml)/(g·dm), están implícitas y no se incluyen en el valor informado.

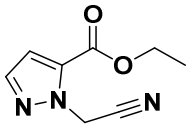
Preparación 1

Etil 1-(cianometil)-1H-pirazol-3-carboxilato



y

Etil 1-(cianometil)-1H-pirazol-5-carboxilato



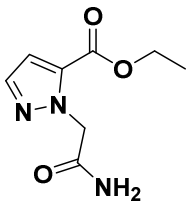
A una suspensión de Cs_2CO_3 (2100 g, 6,44 mol) en DMF (12 l), se agregó etil 1H-pirazol-3-carboxilato (750 g, 5,36 mol), y luego 2-cloroacetonitrilo (450 g, 5,96 mol), y la mezcla se agitó a alrededor de 25 °C durante alrededor de 16 h. La reacción se vertió en agua (12 l) y se extrajo con EtOAc (5 x 5 l). Los extractos de EtOAc combinados se lavaron con salmuera (2 x 5 l), se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron para obtener un residuo que se purificó mediante cromatografía para obtener etil 1-(cianometil)-1H-pirazol-3-carboxilato (398 g, 39 %) como un aceite amarillo y etil 1-(cianometil)-1H-pirazol-5-carboxilato (680 g). Etil 1-(cianometil)-1H-pirazol-5-carboxilato se disolvió en MTBE (15 l) y se lavó con salmuera (3 x 5 l), se secó (Na_2SO_4) y se concentró para obtener el compuesto como un aceite amarillo (489 g, 51 %).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.49 (s, 1 H), 6.82 (s, 1 H), 5.45 (s, 2 H), 4.29 (q, 2 H), 1.29 (t, 3 H).

LCMS m/z = 180.1 $[MH]^+$

Preparación 2

Etil 1-(2-amino-2-oxoetil)-1H-pirazol-5-carboxilato



Se llevaron a cabo dos reacciones idénticas en paralelo.

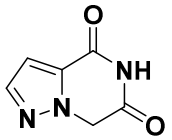
A una solución de etil 1-(cianometil)-1H-pirazol-5-carboxilato (**Preparación 1**, 235,5 g, 1,32 mol) en TFA (1,2 l), se agregó H_2SO_4 conc. (377 ml, 7,04 mol) a alrededor de 25 °C. La mezcla de reacción se agitó a alrededor de 25 °C durante alrededor de 16 h, antes de combinarla con la reacción paralela y concentrarla para eliminar la mayor parte de TFA. El residuo se vertió en agua helada (5 l) y se extrajo con EtOAc (5 l). La fase acuosa se volvió a extraer con EtOAc (10 x 5 l), y los extractos de EtOAc combinados se lavaron con $NaHCO_3$ ac. saturado (2 x 10 l), se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron para obtener el compuesto del título como un sólido amarillo (477 g, 92 %).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.60 (s, 1 H), 6.93 (s, 1 H), 5.90 (br. s, 1 H), 5.71 (br. s, 1 H), 5.27 (s, 2 H), 4.35 (q, 2 H), 1.37 (t, 3 H).

LCMS m/z = 198.2 $[MH]^+$

Preparación 3

Pirazolo[1,5-a]pirazin-4,6(5H,7H)-diona



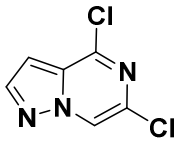
A una solución de etil 1-(2-amino-2-oxoetil)-1H-pirazol-5-carboxilato (**Preparación 2**, 466 g, 2,17 mol) en EtOH (56 l), se agregó NaOtBu (498 g, 5,20 mol) en THF (4 l) a alrededor de 25 °C. Se desarrolló una suspensión blanca durante la adición, y la mezcla luego se calentó hasta alrededor de 70 °C durante alrededor de 16 h. La mezcla de reacción se enfrió hasta alrededor de 25 °C y se acidificó hasta alrededor de pH 6 con HCl ac. 12 M (500 ml), lo que produjo la formación de una suspensión blanca. La mezcla se concentró para obtener el compuesto del título (mezclado con cloruro de sodio) como un sólido amarillo (783 g). Esto se usó sin purificación adicional.

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 11.82 (s, 1 H), 7.74 (s, 1 H), 6.97 (s, 1 H), 5.19 (s, 2 H).

LCMS m/z = 152.1 $[MH]^+$

Preparación 4

4,6-dicloropirazolo[1,5-a]pirazina



Se llevaron a cabo tres reacciones idénticas en paralelo.

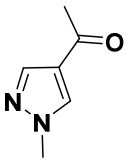
Se agregó pirazolo[1,5-a]pirazin-4,6(5H,7H)-diona (**Preparación 3**, 278 g, 1,14 mol) a $POCl_3$ (1,84 kg, 12 mol) a alrededor de 25 °C, y luego PyHCl (131 g, 1,14 mol). La mezcla de reacción se calentó a alrededor de 120 °C durante alrededor de 16 h. Las reacciones se enfriaron hasta alrededor de 25 °C y se concentraron para eliminar la mayor parte de $POCl_3$. Cada residuo se diluyó con EtOAc (2 l), y los tres extractos de EtOAc se combinaron y se vertieron en NaH_2PO_4 ac. 1 M (7,5 l) a alrededor de 25 °C y se filtraron a través de una almohadilla de Celite®. La torta de filtro se lavó con EtOAc (3 x 2 l), y los filtrados se combinaron y se separaron de la fase acuosa. La fase acuosa se extrajo con MTBE (10 l). Los extractos de EtOAc y MTBE combinados se lavaron con salmuera (2 x 5 l), se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía, y el producto se trituró con éter de petróleo (300 ml) y se filtró. La torta de filtro se secó para obtener el compuesto del título como un sólido blanco (110 g, 22 %).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 8.42 (s, 1 H), 8.06 (s, 1 H), 6.93 (s, 1 H).

LCMS m/z = 189.8 $[MH]^+$ (isótopo ^{37}Cl)

Preparación 5

1-(1-metil-1H-pirazol-4-il)etan-1-ona



Se llevaron a cabo dos reacciones idénticas en paralelo.

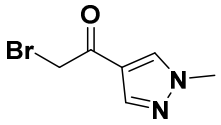
A una mezcla de 1-metilpirazol (750 g, 9,16 mol) y anhídrido acético (1,7 kg, 16,67 mol), se agregó H_2SO_4 concentrado (75 g, 0,75 mol) a alrededor de 20 °C. La mezcla de reacción se calentó a alrededor de 150 °C durante alrededor de 3 h. Después de enfriarlas, las dos mezclas se combinaron, se vertieron en hielo-agua (15 l), se ajustaron a alrededor de pH 10 con 20 % de NaOH ac. y se extrajeron con DCM (4 x 10 l). Los extractos de DCM combinados se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron para obtener el compuesto del título como un aceite marrón (1240 g, 72 %).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.86 (s, 1 H), 7.84 (s, 1 H), 3.92 (s, 3 H), 2.40 (s, 3 H).

GCMS m/z = 109.0 $[M-CH_3]^+$

Preparación 6

2-bromo-1-(1-metil-1H-pirazol-4-il)etan-1-ona



Se llevaron a cabo dos reacciones idénticas en paralelo.

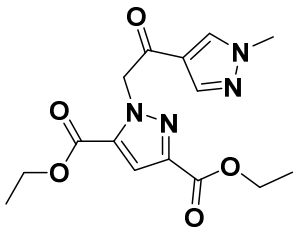
A una solución de 1-(1-metil-1H-pirazol-4-il)etan-1-ona (**Preparación 5**, 620 g, 5 mol) en DCM (12 l) y etanol (3 l), se agregó $PyHBr_3$ (1,6 kg, 5 mol) a alrededor de 15 °C. La mezcla se agitó a alrededor de 15 °C durante alrededor de 18 h. Las dos mezclas de reacción se combinaron, se inactivaron con agua (10 l), se separaron, y la fase acuosa se extrajo con DCM (4 x 10 l). Los extractos de DCM combinados se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron para eliminar alrededor de 69 l de solvente. El residuo se diluyó con éter de petróleo (5 l), se agitó a alrededor de 15 °C durante alrededor de 30 min, y la mezcla se filtró. El precipitado se secó para obtener el compuesto del título como un sólido amarillo (1,73 kg, 85 %).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.97 (s, 1 H), 7.91 (s, 1 H), 4.17 (s, 2 H), 3.93 (s, 3 H).

LCMS m/z = 203.1 $[MH]^+$ (isótopo ^{79}Br)

Preparación 7

Dietil 1-(2-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-2-oxoetil)-1H-pirazol-3,5-dicarboxilato



Se llevaron a cabo dos reacciones en paralelo.

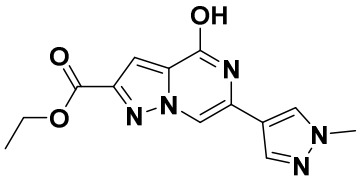
A una mezcla de 2-bromo-1-(1-metil-1H-pirazol-4-il)etan-1-ona (**Preparación 6**; 500 g, 2,46 mol) y dietil-1H-pirazol-3,5-dicarboxilato (580 g, 2,73 mol) en DMF (8 l), se agregó Cs_2CO_3 (1050 g, 3,23 mol) a alrededor de 20 °C. Después de alrededor de 18 h, las dos mezclas de reacción se combinaron, se diluyeron con agua (10 l) y se extrajeron con DCM (3 x 10 l). Los extractos de DCM combinados se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título como un sólido amarillo (1,53 kg, 93%).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.96 (s, 2 H), 7.46 (s, 1 H), 5.86 (s, 2 H), 4.45 (q, 2 H), 4.32 (q, 2 H), 3.99 (s, 3 H), 1.44 (t, 3 H), 1.36 (t, 3 H).

LCMS m/z = 335.0 $[MH]^+$

Preparación 8

Etil 4-hidroxi-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-2-carboxilato



Se llevaron a cabo tres reacciones idénticas en paralelo.

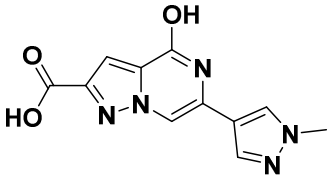
A una solución de dietil 1-(2-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-2-oxoetil)-1H-pirazol-3,5-dicarboxilato (**Preparación 7**; 510 g, 1,52 mol) en etanol (6 l), se agregó NH_4OAc (352 g, 4,57 mol) a alrededor de 20 °C. La mezcla se calentó en una autoclave a alrededor de 130 °C durante alrededor de 24 h. Las mezclas de reacción se enfriaron hasta alrededor de 50 °C, se combinaron y se filtraron. El precipitado se secó para obtener el compuesto del título (1090 g, 83 %) como un sólido blancuzco.

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 11.35 (br. s, 1 H), 8.31 (s, 1 H), 8.20 (s, 1 H), 8.05 (s, 1 H), 7.38 (s, 1 H), 4.34 (q, 2 H), 3.89 (s, 3 H), 1.33 (t, 3 H).

LCMS m/z = 288.0 $[MH]^+$

Preparación 9

Ácido 4-hidroxi-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-2-carboxílico



Se llevaron a cabo dos reacciones idénticas en paralelo.

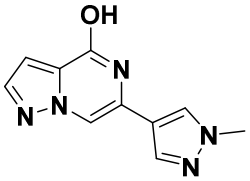
A una suspensión de etil 4-hidroxi-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-2-carboxilato (**Preparación 8**, 545 g, 1,9 mol) en MeOH (10 l), se agregó NaOH ac. 1 M (5,75 l) a alrededor de 20 °C. Después de alrededor de 30 min, la suspensión se tornó una solución transparente, y la agitación continuó a alrededor de 20 °C durante alrededor de 18 h. Las mezclas de reacción se ajustaron a alrededor de pH 2 con HCl ac. 12 M (650 ml), se combinaron y se concentraron para eliminar la mayor parte de MeOH. El residuo se filtró, y el precipitado se secó para obtener el compuesto del título como un sólido blancuzco (1040 g, 100 %).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 13.25 (br. s, 1 H), 11.67 (s, 1 H), 8.34 (s, 1 H), 8.16 (s, 1 H), 8.06 (s, 1 H), 7.32 (s, 1 H), 3.88 (s, 3 H).

LCMS m/z = 260.0 $[MH]^+$

Preparación 10

6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-ol



Se llevaron a cabo cinco reacciones idénticas en paralelo.

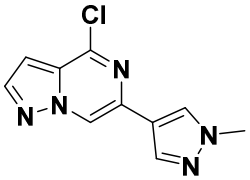
Se agregó ácido 4-hidroxi-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-2-carboxílico (**Preparación 9**, 85 g, 0,328 mol) en porciones a sulfolano precalentado (800 ml) a alrededor de 280 °C. Las cinco mezclas de reacción se agitaron a alrededor de 280 °C durante alrededor de 2 h, se enfriaron hasta alrededor de 25 °C y se agitaron durante alrededor de 18 h. Las mezclas de reacción se combinaron, y la mezcla se purificó mediante cromatografía que se eluyó con éter de petróleo-EtOAc (10:1 a 0:1), y luego DCM-MeOH (10:1), para obtener el compuesto del título como un sólido amarillo (490 g, 75 %).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 11.45 (s, 1 H), 8.28 (s, 1 H), 8.10 (s, 1 H), 8.04 (s, 1 H), 7.88 (s, 1 H), 6.99 (s, 1 H), 3.88 (s, 3 H).

LCMS m/z = 216.0 $[MH]^+$

Preparación 11

4-cloro-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazina



Se llevaron a cabo dos reacciones idénticas en paralelo.

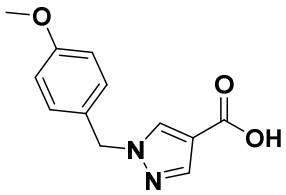
A una suspensión de 6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-ol (**Preparación 10**, 307 g, 1,43 mol) en MeCN (7,5 l), se agregó $POCl_3$ (2006 g, 13 mol) a alrededor de 25 °C. La mezcla se calentó a alrededor de 85 °C durante alrededor de 48 h. Las mezclas de reacción se combinaron y se filtraron. El precipitado se lavó con EtOAc y se secó al vacío. El precipitado seco se purificó mediante cromatografía para obtener un sólido amarillo que se disolvió en DCM (15 l) y se lavó con $NaHCO_3$ ac. 1 M (5 l). El DCM se concentró para eliminar alrededor de 13 l de solvente, y el residuo se diluyó con MTBE (2 l) y éter de petróleo (2 l). La mezcla se filtró, y el precipitado se secó para obtener el compuesto del título como un sólido amarillo (385 g, 58 %).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 9.22 (s, 1 H), 8.27 (s, 1 H), 8.21 (s, 1 H), 8.04 (s, 1 H), 7.02 (s, 1 H), 3.88 (s, 3 H).

LCMS m/z = 233.8 $[MH]^+$ (isótopo ^{35}Cl)

Preparación 12

Ácido 1-(4-metoxibencil)-1H-pirazol-4-carboxílico



Parte 1: Se llevaron a cabo tres reacciones idénticas en paralelo.

A una solución agitada de etil 1H-pirazol-4-carboxilato (16 g, 110 mmol) en MeCN (160 ml), se agregaron PMB-Cl (85,8 g, 548 mmol) y K_2CO_3 (23,7 g, 171 mmol), y la mezcla se calentó a reflujo durante alrededor de 18 h. Los tres lotes se enfriaron, se combinaron y se filtraron. El filtrado se concentró para obtener etil 1-(4-metoxibencil)-1H-pirazol-4-carboxilato como un aceite amarillo que se usó sin purificación adicional.

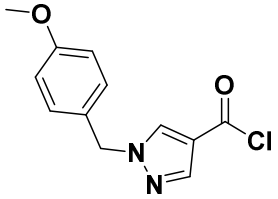
Parte 2: Se llevaron a cabo tres reacciones idénticas en paralelo.

A una solución agitada de etil 1-(4-metoxibencil)-1H-pirazol-4-carboxilato crudo (**Parte 1**, 50,0 g, 96 mmol) en THF (150 ml) y MeOH (150 ml), se agregó una solución de LiOH (10 g, 238 mmol) en agua (75 ml). La mezcla se calentó a alrededor de 60 °C durante alrededor de 18 h. Los tres lotes se combinaron y se evaporaron hasta secarse. El residuo se diluyó con agua (800 ml) y MeOH (150 ml) y se lavó con EtOAc (2 x 500 ml). Los extractos de EtOAc se descartaron, y la solución acuosa se acidificó a alrededor de pH 2 con HCl ac. 6 M y se extrajo con EtOAc (2 x 800 ml). Los extractos de EtOAc combinados se lavaron con salmuera (500 ml), se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron para obtener el compuesto del título como un sólido blanco (33,0 g, 83 % para las dos etapas).

^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 12.34 (br. s, 1 H), 8.32 (s, 1 H), 7.79 (s, 1 H), 7.23 (m, 2 H), 6.89 (m, 2 H), 5.26 (s, 2 H), 3.72 (s, 3 H).

Preparación 13

1-(4-metoxibencil)-1H-pirazol-4-carbonil cloruro

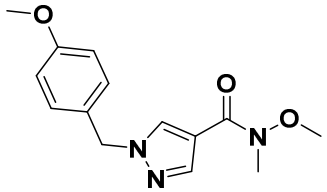


Una solución de ácido 1-(4-metoxibencil)-1H-pirazol-4-carboxílico (**Preparación 12**, 25,0 g, 110 mmol) en $SOCl_2$ (40 ml) se agitó a alrededor de 60 °C durante alrededor

de 5 h. La solución se concentró para obtener el compuesto del título como un aceite marrón (27,0 g, 100 %) que se usó sin purificación o caracterización adicional.

Preparación 14

N-metoxi-1-(4-metoxibencil)-N-metil-1H-pirazol-4-carboxamida



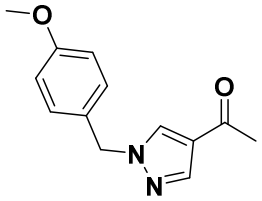
A una solución de N,O-dimetilhidroxilamina clorhidrato (26,3 g, 269 mmol) y TEA (131,0 g, 1,29 mol) en DCM (200 ml), se agregó lentamente una solución de 1-(4-metoxibencil)-1H-pirazol-4-carbonil cloruro (**Preparación 13,** 27,0 g, 108 mmol) en DCM (50 ml). Después de que se completó la adición, la mezcla de reacción se agitó a alrededor de 20 °C durante alrededor de 5 h. La mezcla se diluyó con DCM (150 ml) y agua (300 ml). Los extractos de DCM combinados se lavaron con salmuera, se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron para obtener el compuesto del título (20,0 g, 67 %) como un aceite marrón que se usó sin purificación adicional.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.99 (s, 1 H), 7.90 (s, 1 H), 7.22 (d, 2 H), 6.89 (d, 2 H), 5.25 (s, 2 H), 3.81 (s, 3 H), 3.69 (s, 3 H), 3.31 (s, 3 H).

LCMS m/z = 275.0 $[MH]^+$

Preparación 15

1-(1-(4-metoxibencil)-1H-pirazol-4-il)etan-1-ona



Se llevaron a cabo dos reacciones idénticas en paralelo.

A una solución de N-metoxi-1-(4-metoxibencil)-N-metil-1H-pirazol-4-carboxamida (**Preparación 14**, 10,0 g, 36,3 mmol) en THF (120 ml), se agregó por goteo bromuro de metilmagnesio 3 M en éter (24,2 ml) a alrededor de 0 °C. La mezcla de reacción se calentó hasta alrededor de 25 °C y se agitó durante alrededor de 5 h. La reacción se inactivó mediante la adición de NH_4Cl ac. saturado (100 ml) y se extrajo con EtOAc (2 x 200 ml). Los extractos de EtOAc combinados se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron. Los residuos concentrados de ambos experimentos se combinaron y se purificaron mediante cromatografía para obtener el compuesto del título (10,0 g, 60 %)

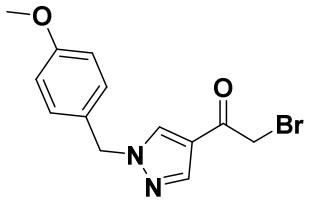
como un sólido marrón.

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 8.47 (s, 1 H), 7.91 (s, 1 H), 7.25 (m, 2 H), 6.90 (m, 2 H), 5.27 (s, 2 H), 3.72 (s, 3 H), 2.34 (s, 3 H).

LCMS m/z = 231.7 $[MH]^+$

Preparación 16

2-bromo-1-(1-(4-metoxibencil)-1H-pirazol-4-il)etan-1-ona



Se llevaron a cabo dos reacciones idénticas en paralelo.

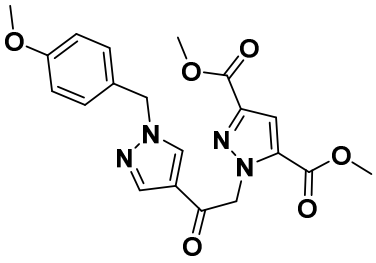
A una solución de 1-(1-(4-metoxibencil)-1H-pirazol-4-il)etan-1-ona (**Preparación 15**, 8,0 g, 34,7 mmol) en DCM (96 ml) y EtOH (24 ml), se agregó $PyHBr_3$ (13,3 g, 41,7 mmol) a alrededor de 20 °C. Las mezclas de reacción se mantuvieron a alrededor de 25 °C durante alrededor de 18 h y se inactivaron con agua (100 ml) antes de combinarlas y extraerlas con EtOAc (2 x 300 ml). Los extractos de EtOAc combinados se lavaron con salmuera, se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía para obtener un sólido amarillo. Esto se trituró con MTBE (100 ml) para obtener el compuesto del título (15,0 g, 70 %) como un sólido amarillo. Se obtuvo una muestra adicional (5,0 g, 23 %) de producto levemente impuro como un sólido amarillo mediante concentración de los licores de la trituración.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.99 (s, 1 H), 7.89 (s, 1 H), 7.23 (m, 2 H), 6.92 (m, 2 H), 6.92 (m, 2 H), 5.25 (s, 2 H), 4.15 (s, 2 H), 3.81 (s, 3 H).

LCMS m/z = 333.0 $[MNa]^+$ (isótopo ^{81}Br)

Preparación 17

Dimetil 1-(2-(1-(4-metoxibencil)-1H-pirazol-4-il)-2-oxoetil)-1H-pirazol-3,5-dicarboxilato



A una mezcla de dimetil 1H-pirazol-3,5-dicarboxilato (1 g, 5 mmol) y 2-bromo-1-(1-(4-metoxibencil)-1H-pirazol-4-il)etan-1-ona (**Preparación 16,** 2,18 g, 7,06 mmol) en

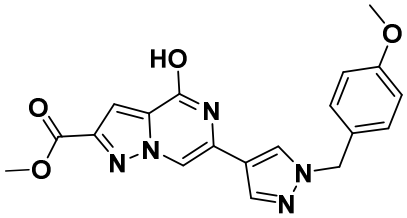
DMF (20 ml), se agregó Cs_2CO_3 (2,3 g, 7,06 mmol) a alrededor de 20 °C. Después de alrededor de 2 días, la mezcla se concentró hasta secarse. El residuo se disolvió en DCM y se lavó una vez con NH_4Cl ac. saturado. El DCM se concentró, y el residuo se purificó mediante cromatografía. El producto se agitó en EtOAc (20 ml) a alrededor de 20 °C durante alrededor de 18 h. El sólido formado se filtró y se secó para obtener el compuesto del título (1,38 g, 60 %).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.96 (s, 1 H), 7.82 (s, 1 H), 7.42 (s, 1 H), 7.24 (d, 2 H), 6.93 (d, 2 H), 5.80 (s, 2 H), 5.27 (s, 2 H), 3.95 (s, 3 H), 3.84 (s, 3 H), 3.83 (s, 3 H).

LCMS m/z = 413.1 $[MH]^+$

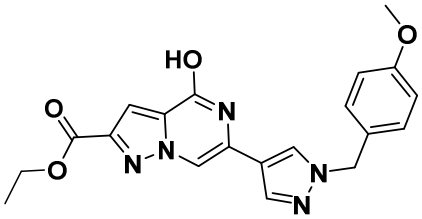
Preparación 18

Metil 4-hidroxi-6-(1-(4-metoxibencil)-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-2-carboxilato



y

Etil 4-hidroxi-6-(1-(4-metoxibencil)-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-2-carboxilato



Se llevaron a cabo seis reacciones idénticas en paralelo.

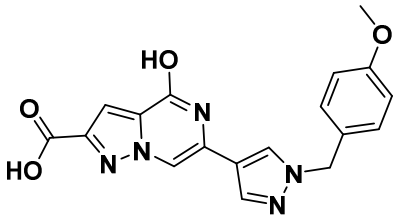
A cada uno de los seis viales, se agregaron dimetil 1-(2-(1-(4-metoxibencil)-1H-pirazol-4-il)-2-oxoetil)-1H-pirazol-3,5-dicarboxilato (**Preparación 17**, 300 mg, 0,73 mmol), NH_4OAc (336 mg, 4,37 mmol) y EtOH (6 ml). Las mezclas se calentaron en irradiación de microondas a alrededor de 150 °C durante alrededor de 2 h, luego se enfriaron hasta alrededor de 20 °C, se agitaron durante alrededor de 1 h y se filtraron. Los sólidos combinados se secaron para obtener una mezcla de ambos compuestos del título que se usó sin purificación adicional en la siguiente etapa (1,61 g).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 11.65 (br. s., 1 H), 8.38 (s, 1 H), 8.17 (s, 1 H), 8.07 (s, 1 H), 7.36 (s, 1 H), 7.26 (d, 2 H), 6.93 (d, 2 H), 5.75 (s, 1 H), 5.28 (s, 2 H), 3.86 (s, 3 H),

3.74 (s, 3 H). Este es el metiléster que era el componente principal.
LCMS m/z = 380.1 $[MH]^+$, 394.1 $[MH]^+$

Preparación 19

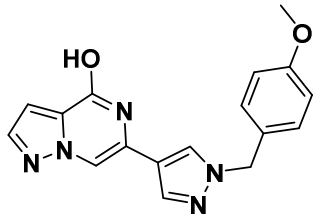
Ácido 4-hidroxi-6-(1-(4-metoxibencil)-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-2-carboxílico



A una solución de la mezcla de metil 4-hidroxi-6-(1-(4-metoxibencil)-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-2-carboxilato y etil 4-hidroxi-6-(1-(4-metoxibencil)-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-2-carboxilato (**Preparación 18**, 524 mg, alrededor de 1,38 mmol) en MeOH (10 ml), se agregó NaOH ac. 1 M (4,83 ml). La mezcla se mantuvo a alrededor de 20 °C durante alrededor de 18 h antes de agregar más NaOH ac. 1 M (1,38 ml). La mezcla se mantuvo a alrededor de 20 °C durante alrededor de 24 horas más. El MeOH se evaporó, y el residuo se diluyó con agua (2 ml) y se agitó a alrededor de 40 °C hasta que todo el sólido se disolvió. La solución se acidificó con HCl ac. 12 M y se agitó a alrededor de 0 °C durante alrededor de 10 min. El precipitado resultante se filtró, y el precipitado se lavó con agua. El sólido se secó al vacío para obtener el compuesto del título (487 mg, 96 %).
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 11.65 (s, 1 H), 8.38 (s, 1 H), 8.18 (m, 1 H), 8.10 (s, 1 H), 7.25 - 7.32 (m, 4 H), 6.95 (m, 2 H), 5.28 (s, 2 H), 3.78 (s, 3 H).
LCMS m/z = 366.0 $[MH]^+$

Preparación 20

6-(1-(4-metoxibencil)-1H-pirazol-4-il)irazol[1,5-a]irazol-4-ol



Se llevaron a cabo tres reacciones idénticas en paralelo.

Muestra 1:

El ácido 4-hidroxi-6-(1-(4-metoxibencil)-1H-pirazol-4-il)irazol[1,5-a]pirazin-2-carboxílico (**Preparación 19**, 40 mg, 0,11 mmol) se calentó a alrededor de 350 °C

durante alrededor de 10 segundos hasta que el sólido blancuzco se fundió y se tornó un líquido marrón oscuro.

Muestra 2:

El ácido 4-hidroxi-6-(1-(4-metoxibencil)-1H-pirazol-4-il)irazol[1,5-a]pirazin-2-carboxílico (**Preparación 19**, 120 mg, 0,33 mmol) se calentó a alrededor de 350 °C durante alrededor de 15 segundos hasta que el sólido blancuzco se fundió y se tornó un líquido marrón oscuro.

Muestra 3:

El ácido 4-hidroxi-6-(1-(4-metoxibencil)-1H-pirazol-4-il)irazol[1,5-a]pirazin-2-carboxílico (**Preparación 19**, 310 mg, 0,85 mmol) se calentó a alrededor de 350 °C durante alrededor de 15 segundos hasta que el sólido blancuzco se fundió por completo y se tornó un líquido marrón oscuro.

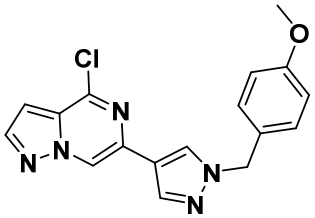
Los tres lotes se enfriaron, se combinaron y se concentraron dos veces con tolueno para obtener el compuesto del título que se usó sin purificación adicional en la siguiente etapa.

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 11.43 (s, 1 H), 8.37 (s, 1 H), 8.11 (s, 1 H), 8.08 (s, 1 H), 7.88 (d, 1 H), 7.28 (d, 2 H), 6.99 (d, 1 H), 6.94 (d, 2 H), 5.28 (s, 2 H), 3.76 (s, 3 H).

LCMS m/z = 322.1 $[MH]^+$

Preparación 21

4-cloro-6-(1-(4-metoxibencil)-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazina



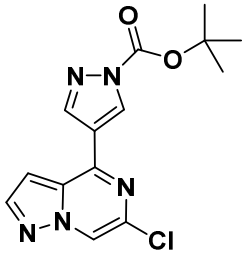
6-(1-(4-metoxibencil)-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-ol (**Preparación 20**, 390 mg, 1,21 mmol), PyHCl (143 mg, 1,21 mmol) y $POCl_3$ (10 ml) se calentaron a alrededor de 120 °C durante alrededor de 18 h. La mezcla se concentró, y el residuo se trató con solución ac. de NaH_2PO_4 para mantener un pH de alrededor de 4. La solución resultante se agitó a alrededor de 20 °C durante alrededor de 10 min y se extrajo tres veces con DCM. Los extractos de DCM combinados se secaron y se concentraron para obtener el compuesto del título como un sólido marrón (300 mg, 72 %).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 8.74 (s, 1 H), 8.50 (s, 1 H), 8.22 (m, 2 H), 7.45 (m, 2 H), 6.92 - 7.02 (m, 3 H), 3.88 (s, 2 H), 2.15 (s, 3 H).

LCMS m/z = 340.0 $[MH]^+$

Preparación 22

Ter-butil 4-(6-cloropirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-carboxilato



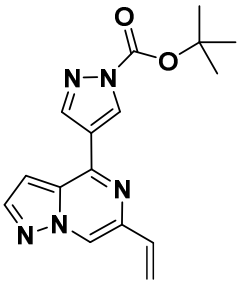
Una solución de 4,6-dicloropirazolo[1,5-a]pirazina (**Preparación 4**, 700 mg, 3,72 mmol), ter-butil 4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol-1-carboxilato (1100 mg, 3,72 mmol), K_3PO_4 ac. 2 M (3 ml, 6 mmol) en 1,4-dioxano (10,0 ml) se purgó con argón durante alrededor de 5 min. A esto se agregó bis(tri-t-butilfosfina)paladio(0) (96,1 mg, 0,19 mmol), y la reacción se mantuvo a alrededor de 20 °C durante alrededor de 18 h. El solvente se concentró para obtener un residuo de color ámbar que se absorbió en DCM y se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título (710 mg, 60 %).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 8.82 (m, 1 H), 8.44 (m, 3 H), 8.14 (s, 1 H), 1.60 (s, 9 H).

LCMS m/z = 220.1 $[MH\text{-}BOC]^+$

Preparación 23

Ter-butil 4-(6-vinilpirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-carboxilato



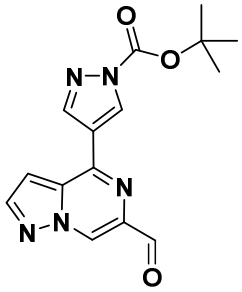
Una solución de ter-butil 4-(6-cloropirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-carboxilato (**Preparación 22**, 700 mg, 2,19 mmol) y tributil(vinil)estannano (694 mg, 2,19 mmol) en 1,4-dioxano (30 ml) se purgó con argón durante alrededor de 5 min, y luego se agregó XPhos Pd G2 (344 mg, 0,44 mmol). La mezcla se calentó hasta alrededor de 55 °C durante alrededor de 18 h. La mezcla se concentró, y el residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título (449 mg, 66 %).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 8.79 (s, 1 H), 8.46 (s, 1 H), 8.26 (s, 1 H), 8.07 (d, 1 H), 6.95 (dd, 1 H), 6.77 (dd, 1 H), 6.43 (dd, 1 H), 5.52 (dd, 1 H), 1.74 (s, 9 H).

LCMS m/z = 312.3 $[MH]^+$

Preparación 24

Ter-butil 4-(6-formilpirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-carboxilato



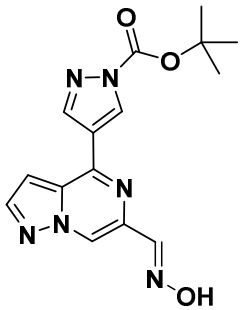
Una solución de ter-butil 4-(6-vinilpirazolo[1,5-a]irazin-4-il)-1H-pirazol-1-carboxilato (**Preparación 23**; 446 mg, 1,43 mmol) y 2,6-lutidina (767 mg, 7,16 mmol) en 1,4-dioxano (9 ml) y agua (3 ml) se enfrió hasta alrededor de 0 °C, y se agregaron $NaIO_4$ (1530 mg, 7,16 mmol) y solución acuosa al 4 % de OsO_4 (0,54 ml). La mezcla se calentó hasta alrededor de 20 °C durante alrededor de 3 h. Los sólidos se retiraron mediante filtración y se lavaron con éter. El 1,4-dioxano y éter combinados se concentraron, y el residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título como un sólido blancuzco (289 mg, 65 %).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 10.20 (s, 1 H), 9.01 (s, 1 H), 8.85 (s, 1 H), 8.50 (s, 1 H), 8.30 (d, 1 H), 7.08 - 7.12 (m, 1 H), 1.73 (s, 9 H).

LCMS m/z = 314.2 $[MH]^+$

Preparación 25

Ter-butil €-4-(6-((hidroxiimino)metil)irazin[1,5-a]irazin-4-il)-1H-pirazol-1-carboxilato



Se agregó hidroxilamina HCl (112 mg, 1,58 mmol) a una mezcla de ter-butil 4-(6-formilpirazolo[1,5-a]irazin-4-il)-1H-pirazol-1-carboxilato (**Preparación 24**, 450 mg, 1,44 mmol) y Na_2CO_3 (196 mg, 1,58 mmol) en MeOH (20 ml). La mezcla se mantuvo a alrededor de 20 °C durante alrededor de 1,5 h. La mezcla se concentró, se agregó agua (30 ml), y la mezcla se agitó durante alrededor de 5 min antes de que el sólido se filtrara y se secara para obtener el compuesto del título como un sólido blancuzco (325 mg, 69

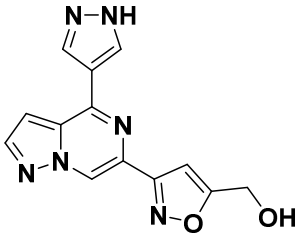
%).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 10.46 (br. s., 1 H), 9.53 (s, 1 H), 8.81 (s, 1 H), 8.46 (s, 1 H), 8.41 (s, 1 H), 8.19 (d, 1 H), 7.03 (d, 1 H), 1.73 (s, 9 H).

LCMS m/z = 329.2 $[MH]^+$

Preparación 26

(3-(4-(1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-6-il)isoxazol-5-il)metanol



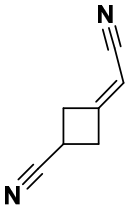
Se agregó por goteo solución de hipoclorito de sodio (alrededor de 12 % a 15 %, 0,19 ml, alrededor de 3,0 mmol) a una solución de ter-butil (E)-4-(6-((hidroxiimino)metil)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-carboxilato (**Preparación 25**, 200 mg, 0,61 mmol) y alcohol de propargilo (171 mg, 3,05 mmol) en DCM (5 ml) a alrededor de 0 °C. La mezcla se calentó hasta alrededor de 20 °C durante alrededor de 18 h. El sólido resultante se filtró para obtener el compuesto del título (115 mg, 67 %).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 9.14 (s, 1 H), 8.56 (s, 2 H), 8.31 (d, 1 H), 7.50 (d, 1 H), 7.09 (s, 1 H), 4.57 - 4.75 (m, 2 H).

LCMS m/z = 283.1 $[MH]^+$

Preparación 27

3-(cianometilen)ciclobutan-1-carbonitrilo



Una solución de 3-oxociclobutan-1-carbonitrilo* (CAS: 20249-16-5, 14,5 g, 152 mmol) en THF (250 ml) se agregó a una mezcla de $(EtO)_2P(O)CH_2CN$ (31,1 g, 175 mmol), LiBr (19,9 g, 229 mmol) y TEA (30,9 g, 305 mmol) en THF (300 ml) a alrededor de 25 °C. Después de alrededor de 16 h, la mezcla se filtró, y el filtrado se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título como un aceite amarillo claro (16,01 g, 89 %).

*Véase *Synthetic Communications* **2005**, *35*, 657 – 662.

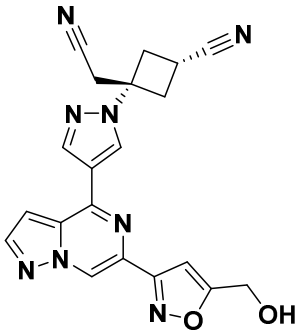
^{1}H NMR (400 MHz, CD_3CN) δ: 5.38 (s, 1 H), 3.30 - 3.43 (m, 2 H), 3.16 - 3.30 (m, 3 H).

LCMS m/z = 119.1 $[MH]^+$

Ejemplo 1

(1s,3s)-3-(cianometil)-3-(4-(6-(5-(hidroximetil)isoxazol-3-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutan-1-carbonitrilo

(isómero cis)



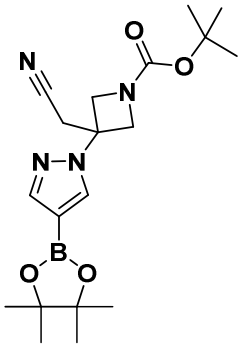
Se agregó DBU (89,0 mg, 0,58 mmol) a una solución de (3-(4-(1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-6-il)isoxazol-5-il)metanol (**Preparación 26**; 55,0 mg, 0,19 mmol) y 3-(cianometilen)ciclobutan-1-carbonitrilo (**Preparación 27**; 23,0 mg, 0,19 mmol) en MeCN (4 ml). La reacción se purgó con nitrógeno y se agitó a alrededor de 20 °C durante alrededor de 20 h. La mezcla se dividió en EtOAc (5 ml) y NaH_2PO_4 ac. 1 M (5 ml). El EtOAc se separó, se secó (Na_2SO_4) y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título (5 mg, 6 %).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 9.26 (m, 1 H), 8.92 (m, 1 H), 8.54 (m, 1 H), 8.40 (m, 1 H), 7.52 (m, 1 H), 7.14 (m, 1 H), 5.55 (br s, 1 H), 4.70 (s, 2 H), 3.60 (m, 3 H), 3.42 - 3.45 (m, 2 H), 2.78 - 2.83 (m, 2 H).

LCMS m/z = 401.4 $[MH]^+$

Preparación 28

Ter-butil 3-(cianometil)-3-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol-1-il)azetidin-1-carboxilato



A una solución de *ter*-butil 3-(cianometilen)azetidin-1-carboxilato (CAS 1153949-

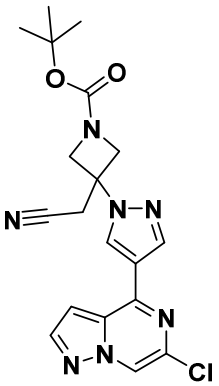
11-1, 7,00 g, 36,1 mmol) en MeCN (100 ml), se agregaron pinacoléster del ácido 4-pirazolborónico (7,71 g, 39,7 mmol) y DBU (2,75 g, 18,0 mmol) a alrededor de 25 °C. Después de alrededor de 18 h, la mezcla se concentró, y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el compuesto del título como un sólido blanco (11 g, 78 %).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.92 (s, 1 H), 7.86 (s, 1 H), 4.40 (m, 2 H), 4.21 (m, 2 H), 3.52 (s, 2 H), 1.44 (s, 9 H), 1.32 (s, 12 H).

LC-MS m/z = 333.0 $[MH-C_4H_8]^+$

Preparación 29

Ter-butil 3-(4-(6-cloropirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-3-(cianometil)azetidin-1-carboxilato



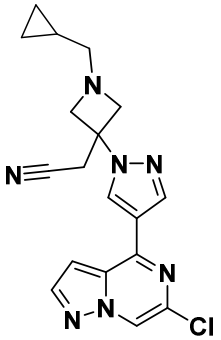
A una solución de ter-butil 3-(cianometil)-3-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol-1-il)azetidin-1-carboxilato (**Preparación 28**, 362 mg, 0,93 mmol) y 4,6-dicloropirazolo[1,5-a]pirazina (**Preparación 4**; 167 mg, 0,89 mmol) en 1,4-dioxano (5 ml), se agregó K_3PO_4 ac. 2 M (1,40 ml) a alrededor de 25 °C. La mezcla se purgó con argón durante alrededor de 2 min, y se agregó bis(tri-t-butilfosfina)paladio(0) (94.3 mg, 0,184 mmol). La mezcla se agitó a alrededor de 20 °C durante alrededor de 2 h. La mezcla se diluyó con DCM, se separó, y la fase acuosa se extrajo dos veces con DCM. Los extractos de DCM combinados se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título como un sólido blanco (295 mg, 75%).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 8.42 (s, 1 H), 8.41 (s, 1 H), 8.31 (s, 1 H), 8.10 (d, 1 H), 7.02 (d, 1 H), 4.54 (d, 2 H), 4.31 (d, 3 H), 3.33 (s, 2 H), 1.49 (s, 9 H).

LCMS m/z = 358.1 $[MH-C_4H_8]^+$

Preparación 30

2-(3-(4-(6-cloropirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-1-(ciclopropilmetil)azetidin-3-il)acetonitrilo



Parte 1

A una solución de ter-butil 3-(4-(6-cloropirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-3-(cianometil)azetidin-1-carboxilato (**Preparación 29**, 0,56 g, 1,35 mmol) en DCM (13,5 ml), se agregó TFA (7 ml) a alrededor de 25 °C. Después de alrededor de 4 h, la mezcla se concentró hasta secarse para obtener 2-(3-(4-(6-cloropirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)azetidin-3-il)acetonitrilo como un sólido amarillo (578 mg, alrededor de 100 %) que se usó sin purificación adicional.

Parte 2

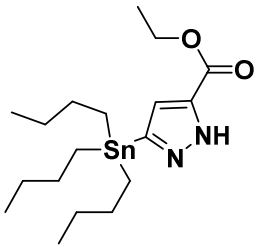
A una solución de 2-(3-(4-(6-cloropirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)azetidin-3-il)acetonitrilo (**Parte 1**, 1,35 mmol) y bromometilciclopropano (365 mg, 2,71 mmol) en DMF (13,5 ml), se agregó TEA (548 mg, 5,41 mmol) a alrededor de 25 °C. La mezcla se calentó a alrededor de 50 °C durante alrededor de 14 h. La solución enfriada se diluyó con agua (20 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 20 ml). Los extractos de EtOAc combinados se lavaron con salmuera (30 ml), se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título como un sólido amarillo (314 mg, 63 %).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 8.39 (s, 1 H), 8.37 (s, 1 H), 8.27 (s, 1 H), 8.08 (d, 1 H), 7.02 (d, 1 H), 3.78 - 3.84 (m, 2 H), 3.59 (d, 2 H), 3.42 (s, 2 H), 2.45 (d, 2 H), 0.77 - 0.87 (m, 1 H), 0.48 - 0.55 (m, 2 H), 0.14 (q, 2 H).

LCMS m/z = 367.9 $[MH]^+$ (isótopo ^{35}Cl)

Preparación 31

Etil 3-(tributilestannil)-1H-pirazol-5-carboxilato



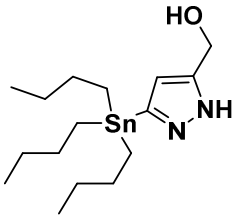
Se agregó etiniltributilestannano (50 g, 158 mmol) a una solución de etildiazoacetato (19,9 g, 175 mmol) en tolueno (500 ml) a alrededor de 25 °C. La solución se calentó durante alrededor de 16 h a alrededor de 100 °C, luego se concentró para obtener el producto crudo como un aceite amarillo (110 g). Esto se combinó con el producto crudo de una reacción equivalente llevada a cabo con etiniltributilestannano (22 g, 70 mmol) y etildiazoacetato (8,76 g, 77 mmol), y los residuos combinados se purificaron mediante cromatografía en columna en alúmina para obtener el compuesto del título como un aceite amarillo (42 g, 61 %).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 10.28 (br. s., 1 H), 6.84 - 6.99 (m, 1 H), 4.41 (q, 2 H), 1.47 - 1.67 (m, 6 H), 1.41 (t, 3 H), 1.28 - 1.39 (m, 6 H), 1.04 - 1.24 (m, 6 H), 0.90 (t, 9 H).

LCMS m/z 431.2 $[MH]^+$ (isótopo ^{120}Sn).

Preparación 32

(3-(tributilestannil)-1H-pirazol-5-il)metanol



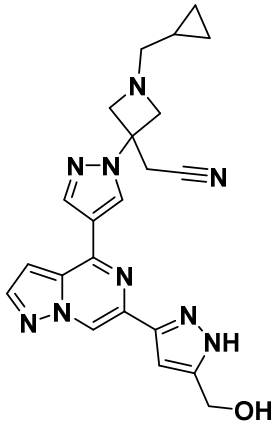
Etil 3-(tributilestannil)-1H-pirazol-5-carboxilato (**Preparación 31**, 6000 mg, 13,98 mmol) en THF (200 ml) se agregó a una suspensión agitada de hidruro de litio y aluminio (3108 mg, 83,9 mmol) en THF (200 ml) a alrededor de -10 °C. Después de alrededor de 4 h, la mezcla se inactivó con Na_2SO_4 decahidrato a alrededor de -10 °C hasta que la efervescencia cesó. La mezcla se filtró, y la torta de filtro se lavó con THF (500 ml) y DCM (5 x 500 ml). Los filtrados combinados se concentraron para obtener el compuesto del título como un sólido blanco (4460 mg, 82 %).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 10.35 (br. s., 1 H), 6.28 - 6.43 (m, 1 H), 4.75 (s, 2 H), 1.49 - 1.60 (m, 6 H), 1.29 - 1.39 (m, 6 H), 1.08 - 1.15 (m, 6 H), 0.87 - 0.93 (m, 9 H).

LCMS m/z = 388.9 $[MH]^+$ (isótopo ^{120}Sn)

Ejemplo 2

2-(1-(ciclopropilmetil)-3-(4-(6-(5-(hidroximetil)-1H-pirazol-3-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)azetidin-3-il)acetonitrilo



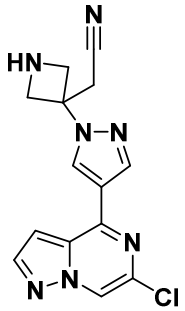
A una solución de 2-(3-(4-(6-cloropirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-1-(ciclopropilmetil)azetidin-3-il)acetonitrilo (**Preparación 30**, 204 mg, 0,55 mmol) y 3-(tributilestannil)-1H-pirazol-5-il)metanol (**Preparación 32**, 215 mg, 0,55 mmol), se agregó XPhos Pd G2 (43,6 mg, 0,055 mmol) en 1,4-dioxano (5,5 ml). La mezcla se calentó a alrededor de 110 °C durante alrededor de 4 h. La mezcla se evaporó hasta secarse, y el residuo se combinó con el residuo de una reacción equivalente usando 2-(3-(4-(6-cloropirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-1-(ciclopropilmetil)azetidin-3-il)acetonitrilo (**Preparación 30**, 110 mg, 0,27 mmol) y 3-(tributilestannil)-1H-pirazol-5-il)metanol (**Preparación 32**, 105 mg, 0,27 mmol). Los residuos combinados se purificaron mediante HPLC para obtener el compuesto del título (112 mg, 31 %).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 8.66 (s, 1 H), 8.64 - 8.69 (m, 1 H), 8.38 (s, 1 H), 8.23 (s, 1 H), 8.06 (d, 1 H), 6.94 (d, 1 H), 6.67 (s, 1 H), 4.80 (s, 2 H), 3.80 (d, 2 H), 3.62 (d, 2 H), 3.41 (s, 2 H), 2.44 (d, 2 H), 0.76 - 0.86 (m, 1 H), 0.46 - 0.53 (m, 2 H), 0.10 - 0.16 (m, 2 H).

LCMS m/z 430.1 $[MH]^+$

Preparación 33

2-(3-(4-(6-cloropirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)azetidin-3-il)acetonitrilo



A una solución de ter-butil 3-(4-(6-cloropirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-3-(cianometil)azetidin-1-carboxilato (**Preparación 29**, 485 mg, 1,17 mmol) en DCM

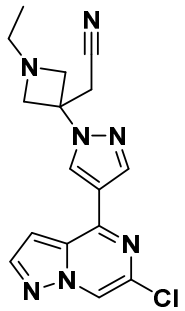
(20 ml), se agregó TFA (6 ml) a alrededor de 0 °C. La mezcla se agitó a alrededor de 25 °C durante alrededor de 4 h. La solución se concentró. El residuo se ajustó a alrededor de pH 9 con NH_4OH conc. (alrededor de 0,5 ml) y se dividió en agua (10 ml) y DCM (30 ml). La solución acuosa se extrajo con DCM (3 x 30 ml). Los extractos de DCM combinados se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron para obtener el compuesto del título como un sólido amarillo (300 mg, 81 %).

^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ: 8.91 (s, 1 H), 8.72 (s, 1 H), 8.53 (s, 1 H), 8.20 (d, 1 H), 7.40 (d, 1 H), 4.90 (d, 2 H), 4.66 (d, 2 H), 3.72 (s, 2 H).

LCMS m/z 313.9 $[MH]^+$ (isótopo ^{35}Cl)

Preparación 34

2-(3-(4-(6-cloropirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-1-etilazetidin-3-il)acetonitrilo



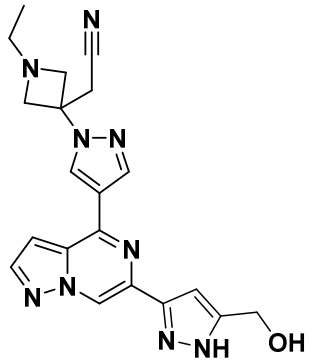
Se agregaron acetato de sodio (314 mg, 3,82 mmol) y acetaldehído (842 mg, 19,1 mmol) a una solución de 2-(3-(4-(6-cloropirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)azetidin-3-il)acetonitrilo (**Preparación 33**, 120 mg, 0,38 mmol) en MeOH (6 ml), y la mezcla se agitó durante alrededor de 4 h. Luego se agregó $NaBH(OAc)_3$ (243 mg, 1,15 mmol), y la mezcla se agitó durante alrededor de 16 h más a alrededor de 25 °C. La mezcla se concentró, y el residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título como un sólido amarillo (115 mg, 88 %).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 8.41 (s, 1 H), 8.39 (s, 1 H), 8.29 (s, 1 H), 8.10 (d, 1 H), 7.04 (d, 1 H), 3.79 (d, 2 H), 3.59 (d, 2 H), 3.43 (s, 2 H), 2.65 (q, 2 H), 1.06 (t, 3 H).

LCMS m/z = 342.1 $[MH]^+$ (isótopo ^{35}Cl)

Ejemplo 3

2-(1-etil-3-(4-(6-(5-(hidroximetil)-1H-pirazol-3-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)azetidin-3-il)acetonitrilo



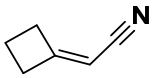
A una solución de 2-(3-(4-(6-cloropirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-1-etilazetidin-3-il)acetonitrilo (**Preparación 34**, 100 mg, 0,29 mmol) en 1,4-dioxano (5 ml), se agregaron 3-(tributilestannil)-1H-pirazol-5-il)metanol (**Preparación 32**, 136 mg, 0,35 mmol) y XPhos Pd G2 (23,0 mg, 0,029 mmol). La mezcla se calentó a alrededor de 110 °C durante alrededor de 16 h. La mezcla se concentró, y el residuo se purificó mediante cromatografía. El producto se volvió a purificar mediante HPLC para obtener el compuesto del título como un sólido amarillo (59 mg, 46 %).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 13.21 (s, 0.5 H), 12.93 (s, 0.5 H), 9.23 (s, 0.5 H), 9.07 (s, 1 H), 8.6 - 8.89 (m, 1 H), 8.69 (s, 0.5 H), 8.47 (s, 0.5 H), 8.26 (s, 1 H), 7.47 - 7.53 (m, 1 H), 6. - 9-6.94 (m, 1 H), 5.35 (s, 0.5 H), 5.35 (s, 0.5 H), 4.50 - 4.57 (m, 2 H), 3.68 - 3.71 (m, 2 H), 3.57 - 3.54 (m, 4 H), 3.17 - 3.16 (m, 0.5 H), 2.57 - 2.54 (m, 2 H), 0.96 - 0.93 (m, 3 H). Este espectro coincidió con la presencia de tautómeros distinguibles.

LCMS m/z = 404.3 $[MH]^+$

Preparación 35

2-ciclobutilidenacetonitrilo



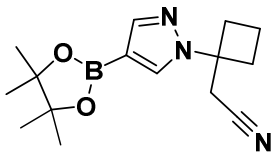
Una mezcla de $(EtO)_2P(O)CH_2CN$ (4,48 g, 25,2 mmol), LiBr (1,96 g, 22,6 mmol) y TEA (2,28 g, 22,6 mmol) en THF seco (40 ml) se agitó a alrededor de 25 °C durante alrededor de 2 h. A esto se agregó una solución de ciclobutanona (1,58 g, 22,6 mmol) en THF (5 ml) a alrededor de 25 °C. Después de alrededor de 16 h, la mezcla se concentró, y el residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título como un aceite incoloro (1,2 g, 57 %).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 5.11 (quin), 2.93 - 3.05 (m), 2.82 - 2.92 (m), 2.04 - 2.17 (m).

Preparación 36

2-(1-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol-1-

il)ciclobutil)acetonitrilo



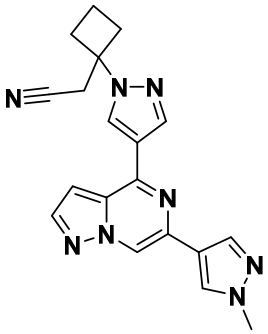
A una mezcla de 2-ciclobutilidenacetonitrilo (**Preparación 35**, 200 mg, 2,15 mmol) y pinacoléster del ácido 4-pirazolborónico (458 mg, 2,36 mmol) en MeCN (15 ml), se agregó DBU (981 mg, 6,44 mmol). La reacción se agitó a alrededor de 25 °C durante alrededor de 16 h y luego se calentó hasta alrededor de 50 °C durante alrededor de 24 h. La mezcla se concentró, y el residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título como un aceite incoloro (150 mg, 24 %).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: m 7.89 (s, 1 H), 7.86 (s, 1 H), 3.09 (s, 2 H), 2.68 - 2.80 (m, 2 H), 2.45 - 2.55 (m, 2 H), 2.01 - 2.10 (m, 2 H), 1.33 (s, 12 H).

LCMS m/z = 287.9 $[MH]^+$

Ejemplo 4

2-(1-(4-(6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutil)acetonitrilo



A una mezcla de 2-(1-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutil)acetonitrilo (**Preparación 36**, 129 mg, 0,45 mmol) y 4-cloro-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazina (**Preparación 11**, 100 mg, 0,43 mmol) en 1,4-dioxano (4,3 ml), se agregaron K_3PO_4 ac. 2 M (0,85 ml) y $PdCl_2$(dppf) (15,7 mg, 0,021 mmol). La mezcla se purgó con nitrógeno durante alrededor de 1 min y se agitó a alrededor de 80 °C durante alrededor de 16 h. La mezcla de reacción se combinó con una reacción equivalente realizada usando 2-(1-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutil)acetonitrilo (**Preparación 36**, 20 mg, 0,07 mmol) y 4-cloro-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazina (**Preparación 11**, 19. mg, 0,083 mmol), K_3PO_4 ac. 2 M (0,14 ml) y $PdCl_2$(dppf) (2,5 mg, 0,0035 mmol) en 1,4-dioxano (2 ml). Las mezclas de reacción combinadas se concentraron, y el residuo se purificó mediante

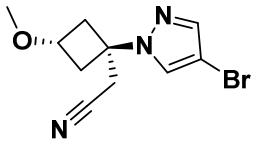
cromatografía. El compuesto se volvió a purificar mediante HPLC para obtener el compuesto del título como un sólido blanco (22 mg, 12 %).

^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ: 8.68 (s, 1 H), 8.63 (s, 1 H), 8.39 (s, 1 H), 8.22 (s, 1 H), 8.07 (d, 1 H), 8.06 (s, 1 H), 7.21 (d, 1 H), 3.97 (s, 3 H), 3.94 - 3.99 (m, 1 H), 3.37 (s, 2 H), 3.35 - 3.39 (m, 1 H), 2.84 - 2.95 (m, 2 H), 2.54 (ddd, 2 H), 2.05 - 2.21 (m, 2 H).

LCMS m/z = 358.9 $[MH]^+$

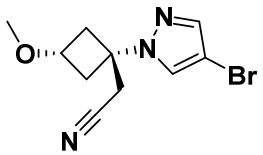
Preparación 37

2-((1r,3s)-1-(4-bromo-1H-pirazol-1-il)-3-metoxiciclobutil)acetonitrilo (isómero trans)



y

2-((1s,3r)-1-(4-bromo-1H-pirazol-1-il)-3-metoxiciclobutil)acetonitrilo (isómero cis).



Se agregó DBU (4,25 ml, 28,4 mmol) a una solución de 2-(3-metoxiciclobutiliden)acetonitrilo (**Preparación 90**, 3,50 g, 28,4 mmol) y 4-bromopirazol (4,18 g, 28,4 mmol) en MeCN (80 ml) a alrededor de 25 °C. Después de alrededor de 18 h, la mezcla se vertió en NaH_2PO_4 (17,04 g, 142 mmol) en agua, y las fases se separaron. La capa acuosa se extrajo dos veces con EtOAc, y los extractos de EtOAc combinados se concentraron. El exceso de 4-bromopirazol se retiró mediante cromatografía que se eluyó con DCM:THF (100:0 a 95:5). El material se volvió a purificar mediante cromatografía que se eluyó con éter:heptano para obtener 2-((1r,3s)-1-(4-bromo-1H-pirazol-1-il)-3-metoxiciclobutil)acetonitrilo como un sólido blanco (isómero trans, 2,19 g, 28 %)

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.62 (s, 1 H), 7.55 (s, 1 H), 3.99 (tt, 1 H), 3.30 (s, 3 H), 3.12 (s, 2 H), 2.96 - 3.04 (m, 2 H), 2.44 - 2.51 (m, 2 H).

LCMS m/z = 270.0 $[MH]^+$ (isótopo ^{79}Br)

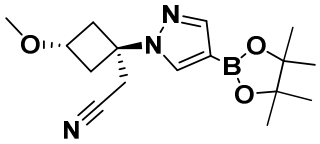
y 2-((1s,3r)-1-(4-bromo-1H-pirazol-1-il)-3-metoxiciclobutil)acetonitrilo como un aceite incoloro (isómero cis, 5,00 g, 65 %).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.60 (s, 1 H), 7.53 (s, 1 H), 4.00 (quin, 1 H), 3.29 (s, 3 H),

2.99 (s, 2 H), 2.85 - 2.96 (m, 2 H), 2.56 - 2.67 (m, 2 H).
LCMS m/z = 270.0 $[MH]^+$ (isótopo ^{79}Br)

Preparación 38

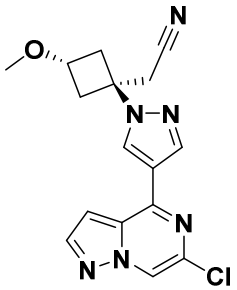
2-((1r,3s)-3-metoxi-1-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutil)acetonitrilo.



Una mezcla de 2-((1r,3s)-1-(4-bromo-1H-pirazol-1-il)-3-metoxiciclobutil)acetonitrilo (**Preparación 37**, isómero trans, 3399 mg, 12,58 mmol), bis(pinacolato)diboro (3510 mg, 13,8 mmol) y acetato de potasio (3700 mg, 37,7 mmol) en 1,4-dioxano (33 ml) se purgó con argón durante alrededor de 5 min, y luego se agregó XPhos Pd G2 (1980 mg, 2,52 mmol) a alrededor de 25 °C. La mezcla se calentó a alrededor de 65 °C durante alrededor de 4 h. La mezcla se concentró, y el residuo se purificó mediante cromatografía para obtener un sólido. A este sólido se agregaron EtOAc (10 ml) y heptano (40 ml), y la mezcla se agitó a alrededor de 25 °C durante alrededor de 30 min. El sólido se filtró y se secó al vacío para obtener el compuesto del título como un sólido blanco (1,95 g, 49 %).
^1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.91 (s, 1 H), 7.87 (s, 1 H), 3.98 (tt, 1 H), 3.28 (s, 3 H), 3.17 (s, 2 H), 2.98 - 3.07 (m, 2 H), 2.45 - 2.53 (m, 2 H), 1.31 (s, 12 H).
LCMS m/z = 318.0 $[MH]^+$

Preparación 39

2-((1r,3s)-1-(4-(6-cloropirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-3-metoxiciclobutil)acetonitrilo



Una solución de 2-((1r,3s)-3-metoxi-1-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutil)acetonitrilo (**Preparación 38**, 1950 mg, 6,15 mmol), 4,6-dicloropirazolo[1,5-a]pirazina (**Preparación 4**, 1160 mg, 6,15 mmol) y K_3PO_4 ac. 2 M (9,22 ml) en 1,4-dioxano (25 ml) se purgó con argón durante alrededor de 5 min, y luego

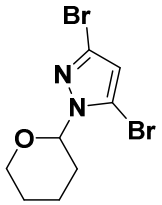
se agregó bis(tri-t-butilfosfina)paladio(0) (157 mg, 0,31 mmol) a alrededor de 25 °C. Después de alrededor de 2 h, la mezcla se diluyó con EtOAc, las fases se separaron, y la fase acuosa se extrajo dos veces con DCM. Los extractos de EtOAc y DCM combinados se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron para obtener un sólido que se volvió a cristalizar de una mezcla tibia (alrededor de 40 °C) de DCM y heptano para obtener el compuesto del título como un sólido blancuzco (1,12 g, 53 %). El filtrado se concentró y se purificó mediante cromatografía para obtener más compuesto del título (1,01 g, 47 %).

^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ: m 8.39 (d, 1 H), 8.38 (s, 1 H), 8.28 (s, 1 H), 8.09 (d, 1 H), 7.03 (dd, 1 H), 4.04 - 4.10 (m, 1 H), 3.33 (s, 3 H), 3.25 (s, 2 H), 3.09 - 3.17 (m, 2 H), 2.53 - 2.61 (m, 2 H).

LCMS m/z = 343.1 $[MH]^+$ (isótopo ^{35}Cl)

Preparación 40

3,5-dibromo-1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazol



A una solución de 3,5-dibromopirazol* (CAS: 67460-86-0, 18,0 g, 79,7 mmol) y DHP (30 ml), se agregó CF_3COOH (73 mg, 0,64 mmol). La mezcla se calentó a alrededor de 95 °C durante alrededor de 12 h. La reacción se inactivó con NaOH (96 mg, 2,4 mmol) y luego se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título (11,5 g, 46 %).

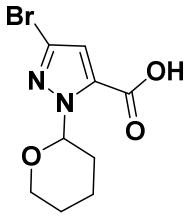
*Véase: *Justus Liebigs Annalen der Chemie* **1959**, *625*, 55 – 65.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 6.35 (s, 1 H), 5.42 (d, 1 H), 4.05 (m, 1 H), 3.65 (m, 1 H), 2.38 - 2.48 (m, 1 H), 2.11 (m, 1 H), 1.90 (m, 1 H), 1.62 - 1.77 (m, 3 H).

LCMS m/z = 226.7 $[MH\text{-}THP]^+$ (isótopo ^{79}Br, ^{81}Br)

Preparación 41

Ácido 3-bromo-1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazol-5-carboxílico



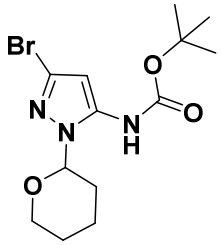
Se agregó por goteo n-BuLi (2,5 M, 15,8 ml, 39,5 mmol) a una solución de 3,5-

dibromo-1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazol (**Preparación 40**, 9,4 g, 30,0 mmol) en THF (87 ml) a alrededor de -78 °C. La mezcla se mantuvo a alrededor de -78 °C durante alrededor de 2 h. Una solución de CO_2 (preparada mediante burbujeo de CO_2 en THF anhidro (100 ml) durante 20 min a alrededor de -70 °C y agitada a esa temperatura durante alrededor de 1,5 h) se agregó por goteo mientras se mantenía la temperatura de reacción interna por debajo de alrededor de -65 °C. La mezcla luego se agitó a alrededor de -70 °C durante alrededor de 1 h. La mezcla se ajustó a alrededor de pH 4 con HCl ac. 1 M a alrededor de 0 °C y se extrajo con EtOAc (3 x 100 ml). Los extractos de EtOAc combinados se lavaron con salmuera (2 x 50 ml), se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título como un sólido amarillo (5,0 g, 60%).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 6.99 (s, 1 H), 6.17 (dd, 1 H), 3.90 (d, 1 H), 3.49 - 3.66 (m, 2 H), 2.12 - 2.28 (m, 1 H), 1.91 - 2.04 (m, 1 H), 1.83 - 1.92 (m, 1 H), 1.58 - 1.70 (m, 1 H), 1.45 - 1.57 (m, 2 H).

Preparación 42

Ter-butil (3-bromo-1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazol-5-il)carbamato



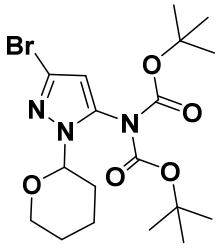
Se agregó difenilfosforilazida (10 g, 36,4 mmol) a una solución de ácido 3-bromo-1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazol-5-carboxílico (**Preparación 41**, 5 g, 18,17 mmol) y DIPEA (6,4 ml, 37,0 mmol) en t-butanol (60,6 ml). La mezcla se calentó a alrededor de 45 °C durante alrededor de 30 min, y luego se calentó a reflujo durante alrededor de 5 h. La mezcla se diluyó con EtOAc (300 ml) y se lavó con $NaHCO_3$ ac. saturado (3 x 100 ml), salmuera (2 x 100 ml), se secó (Na_2SO_4) y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título como un aceite amarillo claro (3,36 g, 53%).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 9.64 (br. s., 1 H), 6.26 (s, 1 H), 5.44 (dd, 1 H), 3.84 (d, 1 H), 3.55 - 3.70 (m, 1 H), 2.08 - 2.20 (m, 1 H), 1.91 - 2.00 (m, 1 H), 1.75 (dd, 1 H), 1.54 - 1.64 (m, 1 H), 1.48 - 1.53 (m, 2 H), 1.46 (s, 9 H).

LCMS m/z = 367.9 $[MNa]^+$ (isótopo ^{79}Br)

Preparación 43

3-bromo-1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-5-(diBoc)-amino-1H-pirazol



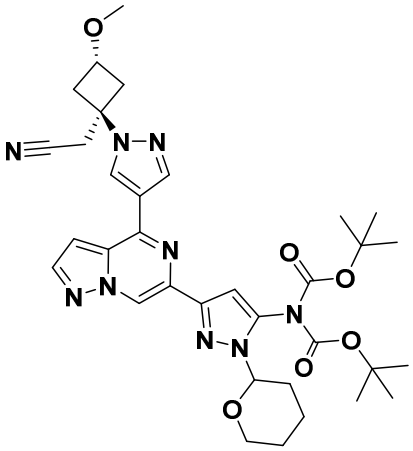
Se agregó DMAP (27 mg, 0,22 mmol) a una solución de ter-butil (3-bromo-1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazol-5-il)carbamato (**Preparación 42**, 390 mg, 1,13 mmol), di-ter-butil dicarbonato (492 mg, 2,25 mmol) y TEA (0,47 ml, 3,38 mmol) en DCM (4 ml) a alrededor de 20 °C. Después de alrededor de 18 h, la mezcla se concentró, y el residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título (450 mg, 89 %)

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 6.42 (s, 1 H), 5.15 (m, 1 H), 4.02 (m, 1 H), 3.60 (m, 1 H), 2.40 (m, 1 H), 2.15 (m, 1 H), 1.88 (m, 1 H), 1.58 - 1.76 (m, 3 H), 1.48 (s, 18 H).

LCMS m/z = 467.9 $[MNa]^+$ (isótopo ^{79}Br)

Preparación 44

2-((1r,3s)-1-(4-(6-(5-(DiBoc)-amino-1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-pirazol-3-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-3-metoxiciclobutil)acetonitrilo



Una mezcla de KOAc (110 mg, 1,06 mmol), bis(pinacolato)diboro (164 mg, 0,64 mmol), 3-bromo-1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-5-(diBoc)-amino-1H-pirazol (**Preparación 43**, 191 mg, 0,43 mmol) y XPhos Pd G2 (55 mg, 0,07 mmol) en 1,4-dioxano (3,5 ml) se calentó hasta alrededor de 65 °C durante alrededor de 3,5 h. La mezcla se enfrió hasta alrededor de 25 °C, y se agregó 2-((1r,3s)-1-(4-(6-cloropirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-3-metoxi-ciclobutil)acetonitrilo (**Preparación 39**, 68 mg, 0,20 mmol), y la mezcla se purgó con nitrógeno antes de agregar K_3PO_4 ac. 2 M (0,53 ml, 1,06 mmol) y

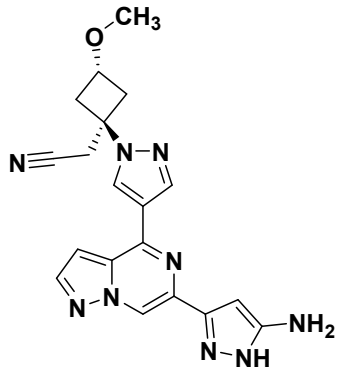
XPhos Pd G2 (55 mg, 0,07 mmol). La mezcla se calentó a alrededor de 80 °C durante alrededor de 3 h. La reacción se inactivó con salmuera y se extrajo con EtOAc. El extracto de EtOAc se concentró, y el residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título como un sólido amarillo (91 mg, 32 %).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 9.08 (s, 1 H), 8.39 (s, 1 H), 8.33 (s, 1 H), 8.09 (d, 1 H), 6.97 (d, 1 H), 6.90 (s, 1 H), 5.26 (dd, 1 H), 4.02 - 4.11 (m, 2 H), 3.64 (t, 1 H), 3.34 (s, 3 H), 3.25 (s, 2 H), 3.12 - 3.20 (m, 2 H), 2.55 - 2.62 (m, 2 H), 2.17 - 2.25 (m, 1 H), 1.93 (dd, 1 H), 1.58 - 1.82 (m, 4 H), 1.45 (s, 18 H).

LCMS m/z = 674.5 $[MH]^+$

Preparación 45

2-((1r,3s)-1-(4-(6-(5-amino-1H-pirazol-3-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-3-metoxiciclobutil)acetonitrilo



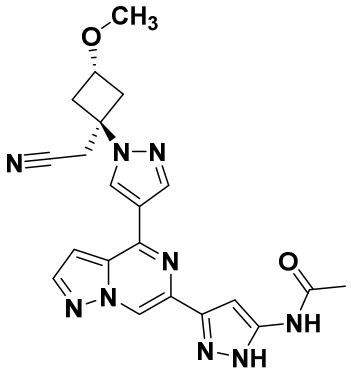
Se agregó TFA (2 ml) a 2-((1r,3s)-1-(4-(6-(5-(diBoc)-amino-1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-pirazol-3-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-3-metoxiciclobutil)-acetonitrilo (**Preparación 44**, 91 mg, 0,13 mmol) en DCM anhidro (1 ml) a alrededor de 20 °C. Después de alrededor de 1 h, la mezcla se concentró. Se agregó DCM, y luego $NaHCO_3$ ac. saturado hasta que el pH de la solución se tornó básico. Las fases se separaron, y la fase acuosa se extrajo dos veces con DCM. Los extractos de DCM combinados se secaron (Na_2SO_4), se concentraron, y el residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título (50 mg, 95 %).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 8.53 (s, 1 H), 8.40 (s, 1 H), 8.25 (s, 1 H), 8.06 (s, 1 H), 6.96 (br. s., 1 H), 6.01 (br. s., 1 H), 4.33 (br. s., 1 H), 4.05 (m, 1 H), 3.31 (s, 3 H), 3.25 (s, 2 H), 3.11 (dd, 2 H), 2.55 (dd, 2 H).

LCMS m/z = 390.3 $[MH]^+$

Ejemplo 5

N-(3-(4-(1-((1r,3s)-1-(cianometil)-3-metoxiciclobutil)-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-6-il)-1H-pirazol-5-il)acetamida



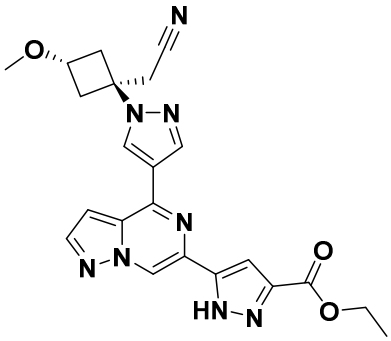
2-((1r,3s)-1-(4-(6-(5-amino-1H-pirazol-3-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-3-metoxi-ciclobutil)acetonitrilo (**Preparación 45**, 39 mg, 0,1 mmol) se colocó en un tubo de reacción, que luego se evacuó y se volvió a llenar tres veces con nitrógeno. A esto se agregó DCM anhidro (1 ml). El tubo se enfrió hasta alrededor de 0 °C antes de agregar N-metilmorfolina (11 mg, 0,11 mmol) y cloruro de acetilo (8,6 mg, 0,11 mmol). La mezcla se calentó hasta alrededor de 25 °C durante alrededor de 18 h. La mezcla se concentró, y el residuo se disolvió en MeOH (2 ml). Se agregó K_2CO_3 (30 mg, 0,22 mmol) a alrededor de 0 °C. Después de alrededor de 3 h, la mezcla se filtró a través de Celite®. El filtrado se concentró, y el residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título (30 mg, 63 %).

^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ: 8.80 (s, 1 H), 8.75 (s, 1 H), 8.40 (s, 1 H), 8.09 (d, 1 H), 7.23 (d, 1 H), 6.88 (s, 1 H), 4.02 - 4.12 (m, 1 H), 3.81 (s, 3 H), 3.34 (s, 2 H), 3.15 - 3.24 (m, 2 H), 2.48 - 2.59 (m, 2 H), 2.21 (s, 3 H).

LCMS m/z = 432.2 $[MH]^+$

Preparación 46

Etil 5-(4-(1-((1r,3s)-1-(cianometil)-3-metoxiciclobutil)-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-6-il)-1H-pirazol-3-carboxilato



Una solución de 2-((1r,3s)-1-(4-(6-cloropirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-3-metoxiciclobutil)acetonitrilo (**Preparación 39**, 200 mg, 0,58 mmol) y etil 3-

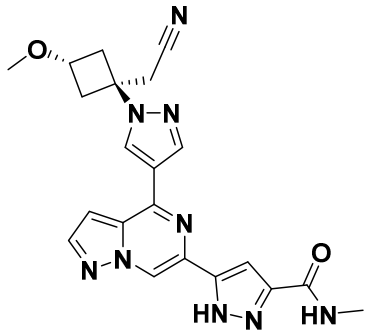
(tributilestannil)-1H-pirazol-5-carboxilato (**Preparación 31**, 300 mg, 0,70 mmol) en 1,4-dioxano (5,8 ml) se purgó con nitrógeno, y se agregó XPhos Pd G2 (45,9 mg, 0,058 mmol) a alrededor de 25 °C. La reacción se calentó a alrededor de 80 °C durante alrededor de 16 h. La mezcla enfriada se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título como un sólido amarillo (220 mg, 84 %).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 14.09 (s, 1 H), 9.39 (s, 1 H), 9.10 (s, 1 H), 8.72 (s, 1 H), 8.30 (d, 1 H), 7.59 (d, 1 H), 7.53 (d, 1 H), 4.33 (q, 2 H), 4.01 (dd, 1 H), 3.44 (s, 3 H), 3.22 (s, 2 H), 3.14 - 3.20 (m, 2 H), 2.43 - 2.48 (m, 2 H), 1.34 (t, 3 H).

LCMS m/z = 447.2 $[MH]^+$

Ejemplo 6

5-(4-(1-((1r,3s)-1-(cianometil)-3-metoxiciclobutil)-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-6-il)-N-metil-1H-pirazol-3-carboxamida



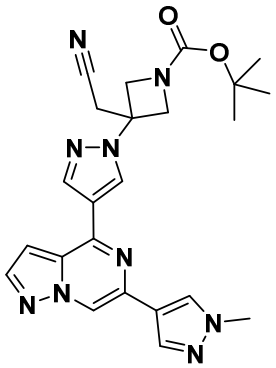
Una solución de etil 5-(4-(1-((1r,3s)-1-(cianometil)-3-metoxiciclobutil)-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-6-il)-1H-pirazol-3-carboxilato (**Preparación 46**, 100 mg, 0,22 mmol) en solución de $MeNH_2$ al 30 % en EtOH (35 ml) se selló en un tubo para microondas a alrededor de 20 °C. Después de alrededor de 16 h, la mezcla se concentró, y el residuo se purificó mediante HPLC para obtener el compuesto del título como un sólido blanco (62 mg, 58 %).

^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ: 9.00 (s, 1 H), 8.91 (s, 1 H), 8.57 (s, 1 H), 8.18 (s, 1 H), 7.37 (br. s., 1 H), 7.26 (s, 1 H), 4.61 (s, 1 H), 4.04 - 4.15 (m, 1 H), 3.37 (s, 3 H), 3.33 (s, 2 H), 3.18 - 3.26 (m, 2 H), 2.95 (s, 3 H), 2.56 (dd, 2 H).

LCMS m/z = 432.1 $[M+H]^+$

Preparación 47

Ter-butil 3-(cianometil)-3-(4-(6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)azetidin-1-carboxilato



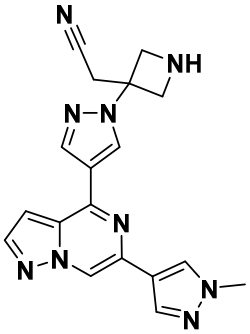
A un vial se agregaron 4-cloro-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazina (**Preparación 11**, 150 mg), *ter*-butil 3-(cianometil)-3-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol-1-il)azetidin-1-carboxilato (**Preparación 28**, 374 mg, 0,96 mmol), Na_2CO_3 ac. 2 M (0,96 ml) y 1,4-dioxano (4 ml). La mezcla se purgó con argón durante alrededor de 5 min, y luego se agregó $PdCl_2$(dppf) (93,7 mg, 0,13 mmol). La mezcla se calentó a alrededor de 120 °C durante alrededor de 1 h en irradiación de microondas. La mezcla se diluyó con EtOAc, se lavó con agua, se secó (Na_2SO_4) y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título como un sólido amarillo (233 mg, 79%).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 9.03 (s, 1 H), 8.95 (s, 1 H), 8.53 (s, 1 H), 8.37 (s, 1 H), 8.20 (d, 1 H), 8.16 (s, 1 H), 7.46 (s, 1 H), 4.54 (d, 2 H), 4.25 (d, 3 H), 3.91 (s, 3 H), 3.67 (s, 2 H), 1.42 (s, 9 H).

LCMS m/z = 460.2 $[MH]^+$

Preparación 48

2-(3-(4-(6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)azetidin-3-il)acetonitrilo



Se agregó TFA (1 ml) a *ter*-butil 3-(cianometil)-3-(4-(6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)azetidin-1-carboxilato (**Preparación 47**, 233 mg, 0,51 mmol) en DCM (5 ml) a alrededor de 25 °C. Después de alrededor de 90 min, la mezcla se concentró. El residuo se concentró dos veces con tolueno, luego se secó

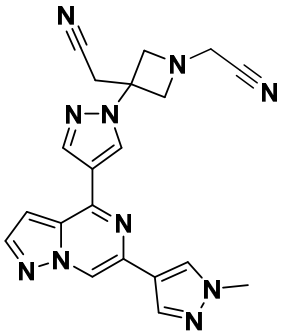
al vacío. El residuo se disolvió en MeOH y se hizo pasar a través de una almohadilla de resina de carbonato con soporte de polímero. La solución eluida se concentró para obtener el compuesto del título (200 mg, alrededor de 100 %) que se usó sin purificación adicional.

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 9.12 (s, 1 H), 9.06 (s, 1 H), 8.58 (s, 1 H), 8.39 (s, 1 H), 8.22 (d, 1 H), 8.17 (s, 1 H), 7.50 (d, 1 H), 4.68 - 4.77 (m, 2 H), 4.35 - 4.40 (m, 2 H), 3.93 (s, 2 H), 3.91 (s, 3 H).

LCMS m/z = 360.5 $[MH]^+$

Ejemplo 7

2,2'-(3-(4-(6-(1-Metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)azetidin-1,3-diil)diacetonitrilo



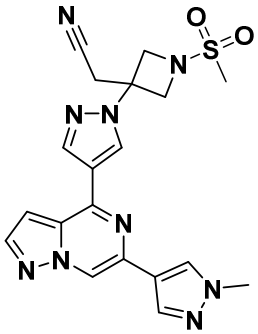
Se agregó DIPEA (132 µl, 0,76 mmol) a una solución de 2-(3-(4-(6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)azetidin-3-il)acet-onitrilo (**Preparación 48**, 91 mg, 0,25 mmol) en DMF (2 ml). Se agregó bromoacetonitrilo (36 mg, 0,30 mmol) a alrededor de 25 °C. Después de alrededor de 18 h, la reacción se inactivó con NH_4OH conc. y se agitó a alrededor de 25 °C durante alrededor de 10 min. La mezcla se concentró, y el residuo se diluyó con DCM. El DCM se lavó dos veces con NH_4Cl ac. saturado, luego dos veces con Na_2CO_3 ac. saturado. El DCM se secó (Na_2SO_4) y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título como un sólido blancuzco (68 mg, 68 %).

^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ: 8.77 (s, 1 H), 8.74 (s, 1 H), 8.45 (s, 1 H), 8.25 (s, 1 H), 8.08 - 8.10 (m, 2 H), 7.25 (d, 1 H), 4.01 (d, 2 H), 3.98 (s, 3 H), 3.86 (d, 2 H), 3.78 (s, 2 H), 3.54 (s, 2 H).

LCMS m/z = 399.3 $[MH]^+$

Ejemplo 8

2-(3-(4-(6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-1-(metilsulfonil)azetidin-3-il)acetonitrilo



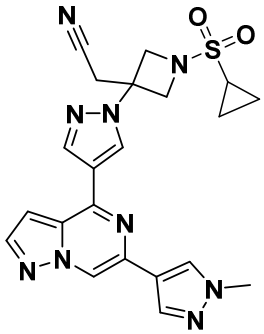
A una solución de 2-(3-(4-(6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)azetidin-3-il)acetonitrilo (**Preparación 48**, 120 mg, 0,27 mmol) y TEA (331 mg, 3,27 mmol) en DCM (20 ml), se agregó cloruro de metansulfonilo (313 mg, 2,73 mmol) a alrededor de 0 °C. La mezcla luego se agitó a alrededor de 10 °C durante alrededor de 1 h antes de concentrarla. El residuo se purificó usando HPLC para obtener el compuesto del título como un sólido blanco (39 mg, 33 %).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 9.05 (s, 1 H), 8.99 (s, 1 H), 8.57 (s, 1 H), 8.37 (s, 1 H), 8.21 (d, 1 H), 8.17 (s, 1 H), 7.47 (d, 1 H), 4.65 (d, 2 H), 4.30 (d, 2 H), 3.91 (s, 3 H), 3.70 (s, 2 H), 3.14 (s, 3 H).

LCMS m/z = 437.9 $[MH]^+$

Ejemplo 9

2-(1-(ciclopropilsulfonil)-3-(4-(6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)azetidin-3-il)acetonitrilo



A una mezcla de 2-(3-(4-(6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)azetidin-3-il)acetonitrilo (**Preparación 48**, 100 mg, 0,25 mmol) en DCM (10 ml), se agregaron TEA (153 mg, 1,52 mmol) y cloruro de ciclopropansulfonilo (107 mg, 0,76 mmol) a alrededor de 0 °C. La mezcla se agitó a alrededor de 20 °C durante alrededor de 16 h, luego se concentró. El residuo se purificó mediante HPLC para obtener el compuesto del título como un sólido blanco (60 mg, 46 %).

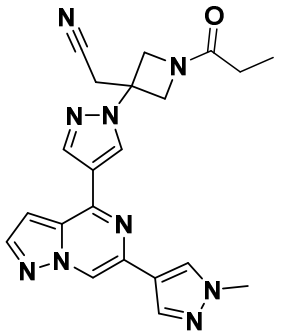
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 9.05 (s, 1 H), 9.00 (s, 1 H), 8.57 (s, 1 H), 8.37 (s, 1 H),

8.21 (d, 1 H), 8.16 (s, 1 H), 7.46 (d, 1 H), 4.69 (d, 2 H), 4.32 (d, 2 H), 3.91 (s, 3 H), 3.70 (s, 2 H), 2.85 (m, 1 H), 0.96 - 1.09 (m, 4 H).

LCMS m/z = 464.0 $[MH]^+$

Ejemplo 10

2-(3-(4-(6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-1-propionilazetidin-3-il)acetonitrilo



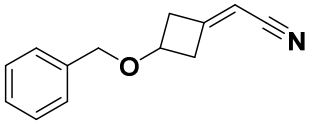
A una solución de 2-(3-(4-(6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)azetidin-3-il)acetonitrilo (**Preparación 48**, 90 mg, 0,23 mmol) en DCM (5 ml), se agregaron TEA (69 mg, 0,68 mmol) y anhídrido propiónico (59 mg, 0,45 mmol). La reacción se agitó a alrededor de 20 °C durante alrededor de 30 min, luego se concentró, y el residuo se purificó mediante HPLC para obtener el compuesto del título como un sólido blanco (28 mg, 30 %).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 9.05 (s, 1 H), 8.97 (s, 1 H), 8.55 (s, 1 H), 8.37 (s, 1 H), 8.21 (d, 1 H), 8.16 (s, 1 H), 7.46 (d, 1 H), 4.80 (d, 1 H), 4.52 (dd, 2 H), 4.23 (d, 1 H), 3.91 (s, 3 H), 3.70 (s, 2 H), 2.16 (q, 2 H), 0.99 (t, 3 H).

LCMS m/z 416.0 $[MH]^+$

Preparación 49

2-(3-(benciloxi)ciclobutiliden)acetonitrilo

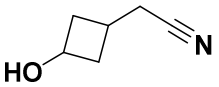


LiBr (0,270 g, 3,12 mmol) se colocó al vacío, luego se volvió a llenar con nitrógeno, y se agregó THF (28 ml), y luego $(EtO)_2POCH_2CN$ (0,53 ml, 3,12 mmol) y TEA (0,79 ml, 5,67 mmol). La solución resultante se agitó a alrededor de 20 °C durante alrededor de 45 min, luego se agregó una solución de 3-(benciloxi)ciclobutanona (500 mg, 2,84 mmol) en THF seco (3 ml). Después de alrededor de 5 h, la mezcla se vertió en EtOAc (100 ml), y el EtOAc se lavó tres veces con NH_4Cl ac. saturado (3 x 50 ml) y con salmuera (25 ml). El extracto de EtOAc se secó ($MgSO_4$) y se concentró. El residuo

se sometió a cromatografía para obtener el compuesto del título (480 mg, 85 %).
^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.29 - 7.43 (m, 5 H), 5.24 (quin, 1 H), 4.45 - 4.53 (m, 2 H), 4.19 (quin, 1 H), 3.18 - 3.29 (m, 1 H), 3.03 - 3.13 (m, 1 H), 2.86 - 3.00 (m, 2 H).

Preparación 50

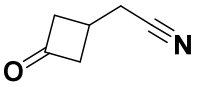
2-(3-hidroxiciclobutil)acetonitrilo



Se agregó hidróxido de paladio sobre carbón (20 % de Pd, húmedo, 430 mg) a una solución de 2-(3-(benciloxi)ciclobutiliden)acetonitrilo (**Preparación 49**, 430 mg, 2,16 mmol) en THF (6,5 ml). La mezcla se presurizó en hidrógeno (100 psi) en un reactor de acero y se agitó a alrededor de 20 °C durante alrededor de 1 h. Se agregó más hidróxido de paladio sobre carbón (20 % de Pd, húmedo, 430 mg), y la mezcla se volvió a presurizar en hidrógeno (100 psi) y se agitó durante alrededor de 1,5 h más. La mezcla se diluyó con EtOAc, se filtró a través de Celite®, y el filtrado se concentró para obtener el compuesto del título como un aceite incoloro (240 mg, 100 %) como una mezcla de isómeros cis y trans.
Isómero 1: ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 4.52 (quin, 1 H), 2.63 - 2.74 (m, 2 H), 2.19 - 2.28 (m, 4 H), 2.07 - 2.17 (m, 1 H), 1.83 (br. s, 1 H).
Isómero 2: ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 4.14 - 4.25 (m, 1 H), 2.55 - 2.64 (m, 2 H), 2.48 (dd, 4 H), 1.83 (br. s, 1 H), 1.67 - 1.79 (m, 1 H).

Preparación 51

2-(3-oxociclobutil)acetonitrilo



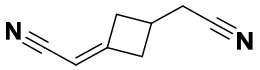
A una solución de 2-(3-hidroxiciclobutil)acetonitrilo (**Preparación 50**, 50 mg, 0,45 mmol) en THF seco (1,8 ml), se agregó periodinano de Dess-Martin (CAS: 87413-09-0, 216 mg, 0,49 mmol). El vial se selló en atmósfera ambiente y se agitó a alrededor de 50 °C durante alrededor de 2 h. La mezcla se diluyó con Et_2O (10 ml), y luego $NaHCO_3$ ac. saturado (4 ml). Se agregó tiosulfato de sodio pentahidrato (954 mg, 3,82 mmol), y la mezcla se agitó vigorosamente durante alrededor de 10 min hasta que todos los sólidos se disolvieron. Las fases se separaron, y la fase acuosa se extrajo una vez más con Et_2O. Los extractos de Et_2O combinados se secaron ($MgSO_4$) y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título como un aceite incoloro (27 mg, 55 %).
^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 3.23 - 3.37 (m, 2 H), 2.89 - 3.01 (m, 2 H), 2.75 - 2.89 (m,

1 H), 2.69 (d, 2 H).

^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$) δ: 203.6, 117.6, 52.3, 23.1, 20.6.

Preparación 52

2-(3-(cianometil)ciclobutiliden)acetonitrilo



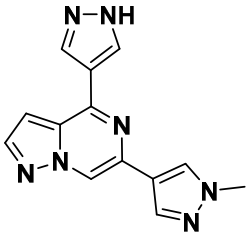
El compuesto del título se preparó (75mg, 89 %) mediante el método de la **Preparación 35** usando 2-(3-oxociclobutil)acetonitrilo (**Preparación 51**, 70 mg, 0,64 mmol), $(EtO)_2POCH_2CN$ (213 mg, 1,15 mmol), LiBr (100 mg, 1,15 mmol) y TEA (0,27 ml, 1,92 mmol). El compuesto del título se usó directamente en la siguiente reacción (Ejemplos 11 y 12).

^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 5.25 (m, 1 H), 3.10 - 3.30 (m, 2 H), 2.80 (m, 3 H), 2.60 (m, 2 H).

GCMS m/z = 132 $[M]^+$

Preparación 53

6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-4-(1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazina



Se agregó $Pd(dppf)Cl_2$ (5,01 g, 6,85 mmol) a una mezcla de 4-cloro-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazina (**Preparación 11**, 8 g, 34 mmol), ter-butil 4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol-1-carboxilato (12,1 g, 41,1 mmol) y K_2CO_3 ac. 2 M (34,2 ml) en 1,4-dioxano (30 ml) y tolueno (30 ml) a alrededor de 10 °C mientras un flujo de nitrógeno se hacía burbujear a través de la solución. La mezcla se agitó at alrededor de 100 °C durante alrededor de 16 h, luego se mantuvo a alrededor de 10 °C durante alrededor de 48 h. La mezcla se filtró, y el filtrado se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título como un aceite gris (6,3 g, 69 %).

^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 8.97 (s, 1 H), 8.72 (s, 1 H), 8.40 (s, 1 H), 8.35 (s, 1 H), 8.15 (d, 1 H), 8.12 (s, 1 H), 7.36 (d, 1 H), 3.91 (s, 3 H).

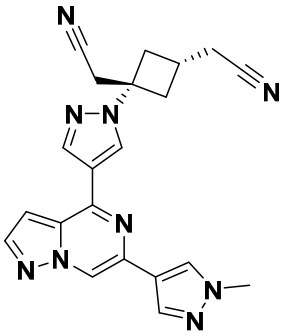
LCMS m/z = 265.8 $[MH]^+$

Ejemplo 11

2,2'-((1s,3s)-1-(4-(6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-

il)ciclobutan-1,3-diil)diacetonitrilo

(isómero cis)

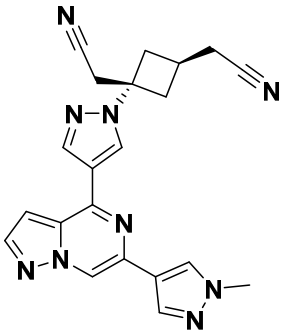


y

Ejemplo 12

2,2'-((1r,3r)-1-(4-(6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutan-1,3-diil)diacetonitrilo

(isómero trans)



Se agregó DBU (34 mg, 0,22 mmol) a una suspensión de 2-(3-(cianometil)ciclobutiliden)acetonitrilo (**Preparación 52**, 32 mg, 0,24 mmol) y 6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-4-(1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazina (**Preparación 53**, 53 mg, 0,20 mmol) en MeCN (4,8 ml). La mezcla se calentó a alrededor de 50 °C durante alrededor de 16 horas, luego se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía para obtener una mezcla de los compuestos del título como una mezcla 1:1 de isómeros cis/trans (80 mg, 83 %). Los isómeros se separaron mediante HPLC para obtener 2,2'-((1s,3s)-1-(4-(6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutan-1,3-diil)diacetonitrilo como un sólido (isómero cis, 27 mg, 36 %).

^{1}H NMR (500 MHz, 9:1 $CDCl_3$-CD_3OD) δ: 8.45 (s, 1 H), 8.35 (s, 1 H), 8.25 (s, 1 H), 7.99 (d, 1 H), 7.95 (s, 1 H), 7.92 (s, 1 H), 6.93 (s, 1 H), 3.95 (s, 3 H), 3.72 (s, 2 H), 3.18 (s, 2 H), 2.81 - 2.91 (m, 2 H), 2.72 - 2.81 (m, 1 H), 2.72 - 2.81 (m, 1 H), 2.64 - 2.72 (m, 2 H), 2.61 (d, 2 H).

LCMS m/z = 399.1 $[MH]^+$

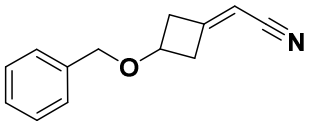
y 2,2'-((1r,3r)-1-(4-(6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)ciclo-butan-1,3-diil)diacetonitrilo como un sólido (isómero trans, 14 mg, 18 %).

^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ: 8.49 (s, 1 H), 8.46 (s, 1 H), 8.32 (s, 1 H), 8.05 (d, 1 H), 7.96 (m, 2 H), 6.95 (d, 1 H), 4.00 (s, 3 H), 3.75 (br. s., 1 H), 3.15 - 3.25 (m, 2 H), 3.11 (s, 2 H), 2.88 (tt, 1 H), 2.64 (d, 2 H), 2.48 - 2.59 (m, 2 H).

LCMS m/z = 399.1 $[MH]^+$

Preparación 54

2-(3-(benciloxi)ciclobutiliden)acetonitrilo



A una solución de $(EtO)_2P(O)CH_2CN$ (24,1 g, 136 mmol) en THF seco (500 ml), se agregaron LiBr (11,8 g, 136 mmol) y TEA (18,4 g, 182 mmol), y la mezcla resultante se agitó a alrededor de 20 °C durante alrededor de 1 h. A esto se agregó 3-(benciloxi)ciclobutan-1-ona (16,00 g, 90,8 mmol). La mezcla se agitó a alrededor de 20 °C durante alrededor de 20 h. La mezcla se filtró, y el filtrado se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título como un líquido amarillo pálido (18 g, 99 %).

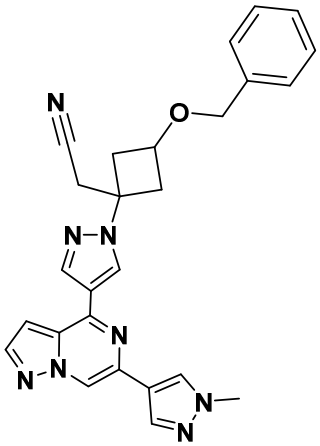
^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.29 - 7.40 (m, 5 H), 5.24 (dt, 1 H), 4.45 - 4.53 (m, 2 H), 4.19 (quin, 1 H), 3.19 - 3.29 (m, 1 H), 3.03 - 3.13 (m, 1 H), 2.86 - 3.00 (m, 2 H).

LCMS m/z = 200.1 $[MH]^+$

Preparación 55

2-(3-(benciloxi)-1-(4-(6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutil)acetonitrilo

(mezcla de isómeros cis y trans)



Se agregó DBU (1,448 g, 9,4 mmol) a una solución de 6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-4-(1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazina (**Preparación 53**, 313 mg, 1,18 mmol) y 2-(3-(benciloxi)ciclobutiliden)acetonitrilo (**Preparación 54**, 470 mg, 2,36 mmol) en MeCN (6,38 ml). La mezcla se agitó a alrededor de 20 °C durante alrededor de 18 h, luego se vertió en solución acuosa de NaH_2PO_4 para mantener un pH de alrededor de 5. La mezcla se extrajo tres veces con DCM. Los extractos de DCM combinados se concentraron, y el residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título (474 mg, 86 %).

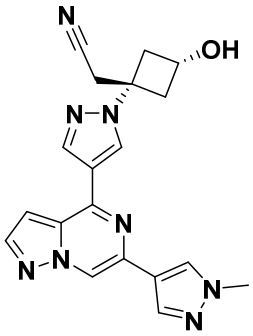
^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ: 8.67 - 8.72 (m, 2 H), 8.63 (s, 1 H), 8.39 (s, 1 H), 8.22 (s, 1 H), 8.04 - 8.10 (m, 2 H), 7.25 - 7.42 (m, 5 H), 4.53 (s, 2 H), 4.24 - 4.34 (m, 1 H), 3.97 (s, 3 H), 3.29 (s, 2 H), 2.92 - 3.02 (m, 2 H), 2.77 - 2.88 (m, 2 H).

LCMS m/z = 465.3 $[MH]^+$

Ejemplo 13

2-((1s,3r)-3-hidroxi-1-(4-(6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutil)acetonitrilo

(isómero cis)

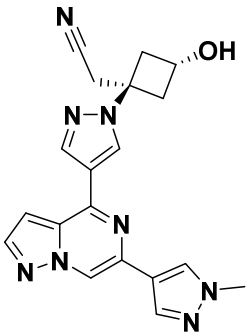


y

Ejemplo 14 PF-06877900

2-((1r,3s)-3-hidroxi-1-(4-(6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutil)acetonitrilo

(isómero trans)



El yoduro de sodio se secó con una pistola de calor a potencia máxima durante 5 min, luego se enfrió hasta alrededor de 25 °C en nitrógeno antes del uso. Se agregó el NaI seco (1,21 g, 8,1 mmol) a alrededor de 20 °C a una solución agitada de (2-(3-(benciloxi)-1-(4-(6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutil)acetonitrilo (**Preparación 55,** 377 mg, 0,81 mmol) en MeCN (12 ml), y luego TMSCl (1,05 ml, 8,1 mmol). La mezcla se agitó a alrededor de 50 °C durante alrededor de 18 h. Se agregó una porción adicional de NaI y de TMSCl, y la mezcla se mantuvo a alrededor de 50 °C durante alrededor de 8 h más. La mezcla enfriada se vertió en $NaHCO_3$ ac. saturado helado que contenía tiosulfato de sodio pentahidrato (10,1 g, 40,6 mmol) y se extrajo tres veces con EtOAc. Los extractos de EtOAc combinados se concentraron para obtener una mezcla de los dos compuestos del título. Esta mezcla se purificó mediante cromatografía para obtener 2-((1s,3r)-3-hidroxi-1-(4-(6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutil)acetonitrilo (isómero trans, 80 mg, 26 %)

^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ: 8.72 (s, 1 H), 8.71 (s, 1 H), 8.42 (s, 1 H), 8.24 (s, 1 H), 8.05 - 8.10 (m, 2 H), 7.24 (d, 1 H), 4.34 - 4.44 (m, 1 H), 3.98 (s, 3 H), 3.35 (s, 2 H), 3.22 - 3.28 (m, 2 H), 2.49 (dd, 2 H).

LCMS m/z = 375.4 $[MH]^+$

y 2-((1r,3s)-3-hidroxi-1-(4-(6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutil)acetonitrilo (isómero cis, 180 mg, 59 %).

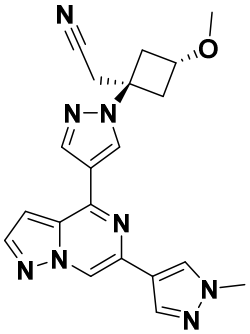
^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ: 8.67 (s, 1 H), 8.62 (s, 1 H), 8.38 (s, 1 H), 8.21 (s, 1 H), 8.07 (d, 1 H), 8.05 (s, 1 H), 8.04 - 8.06 (m, 1 H), 7.21 (d, 1 H), 4.41 (quin, 1 H), 3.97 (s, 3 H), 3.28 (s, 2 H), 2.95 - 3.04 (m, 2 H), 2.68 - 2.78 (m, 2 H).

LCMS m/z = 375.4 $[MH]^+$

Ejemplo 15

2-((1r,3s)-3-metoxi-1-(4-(6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutil)acetonitrilo

(isómero trans)

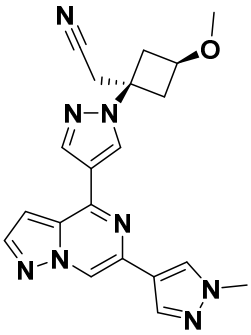


y

Ejemplo 16

2-((1s,3r)-3-metoxi-1-(4-(6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutil)acetonitrilo

(isómero cis)



Una solución de una mezcla de 2-((1s,3r)-3-hidroxi-1-(4-(6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutil)acetonitrilo y 2-((1r,3s)-3-hidroxi-1-(4-(6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutil)acetonitrilo (**Ejemplos 13 y 14**, mezcla de isómeros cis y trans, 48 mg, 0,13 mmol) en THF (0,2 ml) se trató secuencialmente con bromuro de tetrabutilamonio (TBAB, 126 mg, 0,38 mmol), NaOH ac. 1 M (1,02 ml) y sulfato de dimetilo (6 µl). El vial de reacción se selló y se agitó vigorosamente a alrededor de 20 °C durante alrededor de 1 h. Se agregó más sulfato de dimetilo (14 µl) y TBAB (10 mg), y la reacción se mantuvo a alrededor de 20 °C durante alrededor de 2 h. La mezcla se extrajo tres veces con EtOAc, y los extractos de EtOAc combinados se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía para obtener una mezcla de isómeros cis y trans. La purificación adicional mediante HPLC produjo 2-((1r,3s)-3-

metoxi-1-(4-(6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutil)acetonitrilo como un sólido (isómero trans, 10 mg, 20 %)

^{1}H NMR (400 MHz, CD_3CN) δ: 8.61 (d, 1 H), 8.55 (s, 1 H), 8.38 (s, 1 H), 8.12 (s, 1 H), 8.05 (d, 1 H), 7.99 (s, 1 H), 7.13 (d, 1 H), 3.99 - 4.08 (m, 1 H), 3.93 (s, 3 H), 3.27 (s, 5 H), 3.13 - 3.21 (m, 2 H), 2.45 - 2.53 (m, 2 H).

LCMS m/z = 389.1 $[MH]^+$

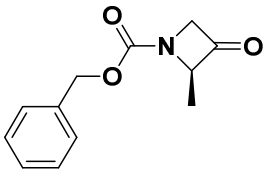
y 2-((1s,3r)-3-metoxi-1-(4-(6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutil)acetonitrilo como un sólido (isómero cis, 17 mg, 33 %).

^{1}H NMR (400 MHz, CD_3CN) δ: 8.60 (d, 1 H), 8.49 (s, 1 H), 8.36 (s, 1 H), 8.12 (s, 1 H), 8.04 (d, 1 H), 7.98 (s, 1 H), 7.12 (dd, 1 H), 4.03 (quin, 1 H), 3.92 (s, 3 H), 3.26 (s, 3 H), 3.19 (s, 2 H), 2.89 - 2.97 (m, 2 H), 2.65 - 2.74 (m, 2 H).

LCMS m/z = 389.1 $[MH]^+$

Preparación 56

Bencil (*R*)-2-metil-3-oxoazetidin-1-carboxilato



Parte 1

Una solución de N,4-dimetil-N-nitrosobencensulfonamida (Diazald®, 21,25 g, 99,19 mmol) en Et_2O (150 ml) se agregó por goteo a una solución de KOH (6 g, 106,9 mmol) y 2-(2-etoxietoxi)etanol (30 ml) y agua (10 ml) a alrededor de 70 °C. La mezcla se calentó a alrededor de 70 °C, y una solución etérea de diazometano se recolectó como un líquido amarillo mediante destilación (100 ml, se estimó que contenía 66 mmol de diazometano) usando un condensador de hielo seco/acetona y se usó inmediatamente en la Parte 2.

Parte 2

Se agregó por goteo cloroformiato de etilo (2,430 g, 22,4 mmol) a una solución de Cbz-D-alanina (5,00 g, 22,4 mmol) y TEA (2,27 mg, 22,4 mmol) en THF (50 ml) a alrededor de -15 °C. La mezcla de reacción se calentó hasta alrededor de 0 °C, y se agregó por goteo la solución de diazometano de la Parte 1 (100 ml, alrededor de 66 mmol) y se agitó a alrededor de 20 °C durante alrededor de 16 h. La mezcla de reacción se inactivó con agua (10 ml) y se extrajo con EtOAc (2 x 30 ml). Los extractos de EtOAc combinados se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el intermediario de diazo-cetona (4,5 g, 81 %) como un

sólido blanco. El material se usó en la Parte 3.

Parte 3

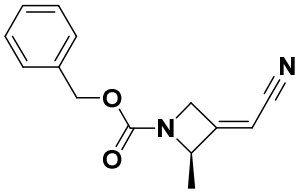
A una solución del intermediario de diazo-cetona de la Parte 2 (4,50 g, 18,2 mmol) en DCM (450 ml), se agregaron TEA (18 mg, 0,18 mmol) y $Rh_2(OAc)_4$ (40 mg, 0,091 mmol) a alrededor de 0 °C. La mezcla se agitó durante alrededor de 16 h a alrededor de 25 °C. La mezcla se inactivó con agua (50 ml), y la fase de DCM se separó y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título como un sólido blanco (1,20 g, 30 %).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.34 - 7.38 (m, 5 H), 5.18 (m, 2 H), 5.03 (m, 1 H), 4.65 - 4.81 (m, 2 H), 1.49 (d, 3 H).

GCMS m/z = 219 $[M]^+$

Preparación 57

Bencil (*R*)-3-(cianometilen)-2-metilazetidin-1-carboxilato

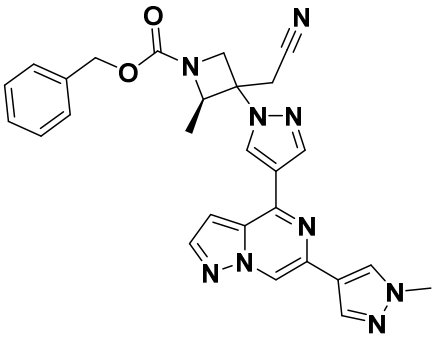


A una mezcla de LiBr (166 mg, 1,92 mmol) y TEA (277 mg, 2,74 mmol) en THF (10 ml), se agregó $(EtO)_2P(O)CH_2CN$ (339 mg, 1,92 mmol) a alrededor de 25 °C. Después de alrededor de 2,5 h, se agregó bencil (R)-2-metil-3-oxoazetidin-1-carboxilato (**Preparación 56**, 300 mg, 1,37 mmol) en THF (2 ml) a alrededor de 25 °C, y la mezcla se agitó durante alrededor de 16 h. La mezcla se concentró, y el residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título como una mezcla de isómeros de olefina E/Z como un aceite incoloro (290 mg, 87 %).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.33 - 7.40 (m, 5 H), 5.36 (m, 1 H), 5.10 - 5.17 (m, 2 H), 4.97 (m, 1 H), 4.63 - 4.77 (m, 2 H), 1.50 - 1.67 (m, 3 H).

Preparación 58

Bencil (2*R*)-3-(cianometil)-2-metil-3-(4-(6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)azetidin-1-carboxilato



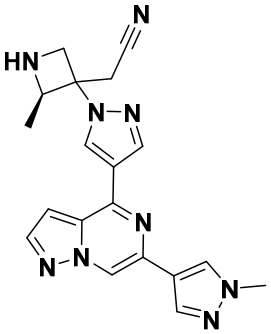
A una solución de 6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-4-(1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazina (**Preparación 53**, 268 mg, 1,01 mmol) en MeCN (15 ml), se agregaron bencil (R)-3-(cianometilen)-2-metilazetidin-1-carboxilato (**Preparación 57**, 294 mg, 1,21 mmol) y DBU (77 mg, 0,51 mmol) a alrededor de 15 °C. La mezcla se agitó a alrededor de 25 °C durante alrededor de 7 h antes de diluirla con EtOAc (50 ml) y lavarla con ácido cítrico ac. 1 M (15 ml), luego salmuera (15 ml). El extracto de EtOAc se concentró, y el residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título como una goma amarilla (500 mg, 97 %).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 8.49 (s, 1 H), 8.33 (s, 1 H), 8.32 (s, 1 H), 8.05 (d, 1 H), 7.96 (s, 1 H), 7.95 (s, 1 H), 7.33 - 7.40 (m, 5 H), 6.93 (d, 2 H), 5.15 (s, 2 H), 4.87 (m, 1 H), 4.61 (d, 1 H), 4.26 (d, 1 H), 4.01 (s, 3 H), 3.27 (s, 2 H), 1.69 (d, 3 H).

LCMS m/z = 530.1 $[M+Na]^+$

Preparación 59

2-((2*R*)-2-metil-3-(4-(6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)azetidin-3-il)acetonitrilo



A una mezcla de NaI (2,36 g, 15,8 mmol) en MeCN (16 ml), se agregó TMSCl (2 ml, 15,8 mmol) a alrededor de 0 °C. La mezcla se agitó a alrededor de 15 °C durante alrededor de 4 h. Se agregó una solución de bencil (2R)-3-(cianometil)-2-metil-3-(4-(6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)azetidin-1-carboxilato (**Preparación 58**, 400 mg, 0,79 mmol) en MeCN (4 ml) a alrededor de 0 °C. La agitación

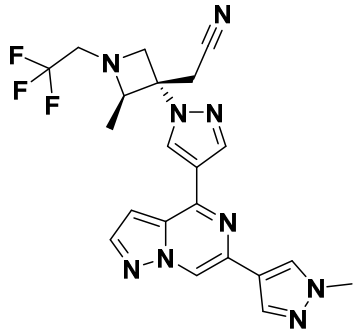
continuó a alrededor de 15 °C durante alrededor de 3 h. La mezcla se enfrió hasta alrededor de 10 °C y se inactivó mediante la adición de TEA (2 ml). La mezcla se concentró. El residuo se disolvió en EtOAc (20 ml) y MeOH (2 ml), y los sólidos presentes se retiraron mediante filtración. El filtrado se concentró, y el residuo se purificó mediante TLC para obtener el compuesto del título como un sólido amarillo (200 mg, 68 %).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 9.06 (s, 1 H), 9.03 (s, 1 H), 8.59 (s, 1 H), 8.39 (s, 1 H), 8.22 (d, 1 H), 8.16 (s, 1 H), 7.47 (s, 1 H), 5.09 (m, 1 H), 4.74 (d, 1 H), 4.24 (d, 1 H), 3.91 (s, 3 H), 2.99 (s, 2 H), 1.65 (d, 3 H).

LCMS m/z = 374.0 $[MH]^+$

Ejemplo 17

2-((2*R*,3*S*)-2-metil-3-(4-(6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-1-(2,2,2-trifluoroetil)azetidin-3-il)acetonitrilo



A una solución de 2-((2R)-2-metil-3-(4-(6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)azetidin-3-il)acetonitrilo (**Preparación 59**, 200 mg, 0,43 mmol) en DMF (5 ml), se agregaron 2,2,2-trifluoroetil trifluorometansulfonato (298 mg, 1,29 mmol) y DIPEA (332 mg, 2,57 mmol). La mezcla se agitó a alrededor de 10 °C durante alrededor de 36 h antes de diluirla con EtOAc (30 ml) y lavarla con salmuera (15 ml). El extracto de EtOAc se concentró, el residuo se purificó mediante HPLC para obtener el compuesto del título como una mezcla de diastereómeros (80 mg, 41 %) como un sólido blanco. La purificación adicional mediante HPLC produjo el compuesto del título como un sólido blanco (41,8 mg, 21 %, 94,7 % de ee).

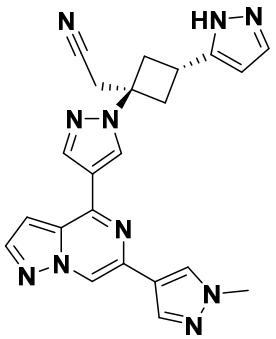
^{1}H NMR (400 MHz, CD_3CN) δ: 8.59 (s, 1 H), 8.45 (s, 1 H), 8.36 (s, 1 H), 8.10 (s, 1 H), 8.04 (d, 1 H), 7.98 (s, 1 H), 7.09 - 7.13 (m, 1 H), 3.92 - 3.96 (m, 1 H), 3.91 (s, 3 H), 3.84 - 3.89 (m, 1 H), 3.77 - 3.84 (m, 1 H), 3.38 (s, 2 H), 3.28 - 3.43 (m, 1 H), 3.15 (dq, 1 H), 1.36 (d, 3 H).

LCMS m/z = 456.2 $[MH]^+$

Ejemplo 18

2-((1r,3r)-1-(4-(6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-

3-(1H-pirazol-5-il)ciclobutil)acetonitrilo



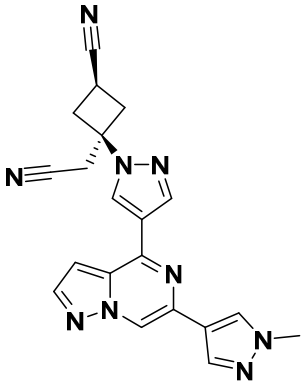
A una solución de LiBr (70 mg, 0,81 mmol), TEA (205 µl, 1,47 mmol) en THF (10 ml), se agregó $(EtO)_2P(O)CH_2CN$ (143 mg, 0,81 mmol). La mezcla se agitó a alrededor de 20 °C durante alrededor de 30 min. Se agregó 3-(1H-pirazol-5-il)ciclobutan-1-ona (**Preparación 99**, 100 mg, 0,74 mmol), y la mezcla se mantuvo a alrededor de 20 °C durante alrededor de 18 h. Alrededor de 30 % de la solución de reacción se retiró, y se agregaron 6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-4-(1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazina (**Preparación 53**, 58 mg, 0,22 mmol) y DBU (110 µl, 0,73 mmol) en MeCN (5 ml). La agitación a alrededor de 20 °C se mantuvo durante alrededor de 20 h. La mezcla se concentró, y el residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título (6 mg, 6 %).

^{1}H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ: 8.85 (s, 1 H), 8.73 (s, 1 H), 8.46 (s, 1 H), 8.26 (s, 1 H), 8.10 (s, 2 H), 7.60 (br. s., 1 H), 7.28 (d, 1 H), 6.32 (d, 1 H), 3.95 - 4.04 (m, 3 H), 3.69 - 3.78 (m, 1 H), 3.33 - 3.43 (m, 2 H), 2.77 - 2.89 (m, 2 H).

LCMS m/z = 425.4 $[MH]^+$

Ejemplo 19

(1s,3s)-3-(cianometil)-3-(4-(6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutan-1-carbonitrilo



A una solución de (1s,3s)-3-(cianometil)-3-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-

dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutan-1-carbonitrilo (**Preparación 91**, 539 mg, 1,72 mmol) y 4-cloro-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazina (**Preparación 11**, 350 mg, 1,5 mmol) en 1,4-dioxano (7,5 ml), se agregó K_3PO_4 ac. 2 M (2,25 ml) a alrededor de 25 °C. La mezcla se colocó en nitrógeno, luego se agregó XPhos Pd G2 (11,8 mg, 0,0150 mmol). La mezcla se calentó a alrededor de 40 °C durante alrededor de 6 h, luego se calentó hasta alrededor de 80 °C para disolver el producto precipitado. La capa acuosa se retiró mientras se mantenía la temperatura a alrededor de 80 °C, luego la fase de 1,4-dioxano se agregó a EtOH (70 ml, precalentado a alrededor de 50 °C). La mezcla se agitó durante alrededor de 10 min a alrededor de 50 °C antes de retirarla del calor. La agitación a alrededor de 25 °C continuó durante alrededor de 18 h. El sólido se filtró y se lavó con EtOH (2 x 25 ml) y se secó al vacío para obtener el compuesto del título como un sólido blanco (483 mg, 84 %).

mp 217 – 220 °C

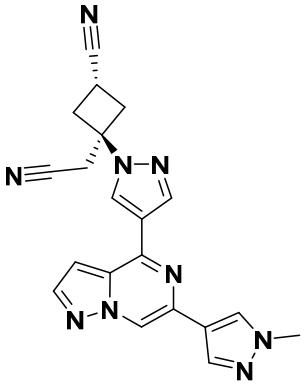
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 9.02 (s, 1H), 8.87 (s, 1H), 8.51 (s, 1H), 8.37 (s, 1H), 8.20 (s, 1H), 8.16 (s, 1H), 7.45 (s, 1H), 3.92 (s, 3H), 3.65 - 3.59 (m, 1H), 3.57 (s, 2H), 3.26 - 3.16 (m, 2H), 2.88 (m, 2H).

^{13}C NMR (101 MHz, DMSO-d_6) δ: 145.21, 142.50, 140.09, 137.15, 133.80, 131.39, 129.54, 129.24, 121.94, 121.03, 120.33, 117.69, 114.55, 99.94, 59.62, 39.28, 36.90, 27.42, 14.64.

LCMS m/z = 384.2 $[MH]^+$

Ejemplo 20

(1r,3r)-3-(cianometil)-3-(4-(6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutan-1-carbonitrilo



A una solución de (1r,3r)-3-(cianometil)-3-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutan-1-carbonitrilo (**Preparación 91**, 3,38 g, 10,8 mmol) y 4-cloro-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazina (**Preparación 11**, 2,20

g, 9,4 mmol) en 1,4-dioxano (47,1 ml), se agregó K_3PO_4 ac. 2 M (14,1 ml). Se hizo burbujear nitrógeno a través de la mezcla durante alrededor de 5 min a alrededor de 25 °C, luego se agregó XPhos Pd G2 (37,0 mg, 0,047 mmol). La mezcla se calentó a alrededor de 40 °C durante alrededor de 18 h, luego se calentó hasta alrededor de 80 °C para disolver el producto precipitado. La capa acuosa se retiró mientras se mantenía la temperatura a alrededor de 80 °C, luego la fase de 1,4-dioxano se agregó a EtOH (471 ml, precalentado a alrededor de 50 °C). La mezcla se agitó durante alrededor de 10 min a alrededor de 50 °C antes de retirarla del calor. La agitación a alrededor de 25 °C continuó durante alrededor de 6 h. El sólido se filtró y se lavó con EtOH (2 x 25 ml), agua (2 x 50 ml) y EtOH (2 x 25 ml). El precipitado se secó al vacío para obtener el compuesto del título como un sólido blanco (3,61 g, 74 %).

El compuesto del título (500 mg, 1,30 mmol) se calentó en 1,4-dioxano (6,5 ml) a alrededor de 80 °C hasta que todo el material se disolvió. Se agregó 1,2-bis(difenilfosfino)etano (7,8 mg, 0,019 mmol), y el calentamiento a alrededor de 80 °C continuó durante alrededor de 4 h, luego la fase de 1,4-dioxano se agregó a EtOH (58,7 ml, precalentada a alrededor de 50 °C). Se usaron 6,5 ml más de EtOH precalentado para enjuagar el recipiente de reacción. La mezcla se retiró del calor. La agitación a alrededor de 25 °C continuó durante alrededor de 18 h. El sólido se filtró y se lavó con EtOH (2 x 5 ml), agua (5 ml), luego EtOH (3 x 5 ml). El precipitado se secó al vacío para obtener el compuesto del título como un sólido blanco (450 mg, 90%).

Punto de fusión 213 – 215 °C

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 9.02 (s, 1 H) 8.92 (s, 1 H) 8.52 (s, 1 H) 8.37 (s, 1 H) 8.19 (s, 1 H) 8.16 (s, 1 H) 7.45 (s, 1 H) 3.91 (s, 3 H) 3.55 - 3.65 (m, 1 H) 3.52 (s, 2 H) 3.22 - 3.38 (m, 2 H) 2.85 - 3.00 (m, 2 H).

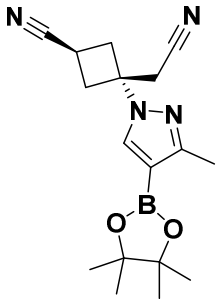
^{13}C NMR (126 MHz, DMSO-d_6) δ: 145.17, 142.46, 140.20, 137.13, 133.78, 131.38, 129.82, 129.51, 122.28, 121.13, 120.33, 117.30, 114.54, 99.91, 61.51, 39.26, 36.26, 29.65, 16.05.

LCMS m/z = 384.1 $[MH]^+$.

Preparación 60

(1r,3r)-3-(cianometil)-3-(3-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutan-1-carbonitrilo

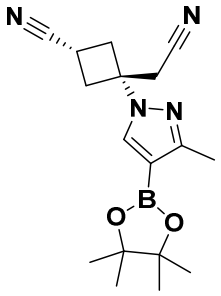
(isómero trans)



y

(1s,3s)-3-(cianometil)-3-(3-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutan-1-carbonitrilo

(isómero cis)



A una solución de 3-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol (600 mg, 2,88 mmol) y 3-(cianometilen)ciclobutan-1-carbonitrilo (**Preparación 27**, 341 mg, 2,88 mmol) en MeCN (28,8 ml), se agregó DBU (439 mg, 2,88 mmol) a alrededor de 20 °C. Después de alrededor de 18 h a alrededor de 20 °C, la mezcla se vertió en EtOAc y 10 % de K_2HPO_4 acuoso. El EtOAc se separó, y la fase acuosa se extrajo dos veces más con EtOAc. Los extractos de EtOAc combinados se lavaron con salmuera, se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener (1r,3r)-3-(cianometil)-3-(3-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutan-1-carbonitrilo (isómero trans, 325 mg, 35 %)

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.79 (s, 1 H), 3.17 - 3.28 (m, 3 H), 3.16 (s, 2 H), 2.81 - 2.89 (m, 2 H), 2.39 (s, 3 H), 1.32 (s, 12 H).

LCMS m/z = 327.2 $[MH]^+$

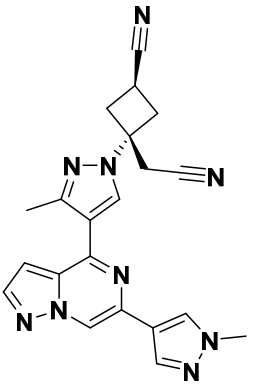
y (1s,3s)-3-(cianometil)-3-(3-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutan-1-carbonitrilo (isómero cis, 171 mg, 18 %).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.75 (s, 1 H), 3.18 - 3.28 (m, 1 H), 3.08 - 3.18 (m, 2 H), 3.05 (s, 2 H), 2.93 - 3.02 (m, 2 H), 2.39 (s, 3 H), 1.32 (s, 12 H).

LCMS m/z = 327.2 $[MH]^+$

Ejemplo 21

(1r,3r)-3-(cianometil)-3-(3-metil-4-(6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutan-1-carbonitrilo



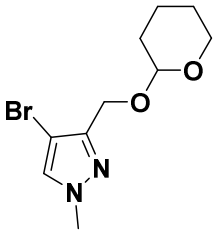
A una solución de (1r,3r)-3-(cianometil)-3-(3-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutan-1-carbonitrilo (**Preparación 60**, isómero trans, 209 mg, 0,64 mmol) en 1,4-dioxano (4,3 ml), se agregaron 4-cloro-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazina (**Preparación 11**, 150 mg, 0,64 mmol) y K_3PO_4 ac. 2 M (0,96 ml). La mezcla se purgó con nitrógeno durante alrededor de 5 min, luego se agregó XPhos Pd G2 (101 mg, 0,13 mmol). La mezcla se calentó a alrededor de 40 °C durante alrededor de 2 horas, luego se concentró. El residuo se disolvió en EtOAc, y el EtOAc se lavó con agua. La fase acuosa se extrajo dos veces más con EtOAc, luego una vez con DCM. Los extractos de EtOAc y DCM combinados se secaron (Na_2SO_4), se concentraron, y el residuo se purificó mediante cromatografía para obtener un sólido que se volvió a cristalizar de MeCN para obtener el compuesto del título (120 mg, 47 %).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 9.00 (s, 1 H), 8.74 (s, 1 H), 8.26 (s, 1 H), 8.18 (s, 1 H), 8.08 (s, 1 H), 7.32 (s, 1 H), 3.91 (s, 3 H), 3.55 (quin, 1 H), 3.48 (s, 2 H), 3.22 - 3.30 (m, 2 H), 2.84 - 2.93 (m, 2 H), 2.63 (s, 3 H).

LCMS m/z = 398.3 $[MH]^+$

Preparación 61

4-bromo-1-metil-3-(((tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)metil)-1H-pirazol



A una solución de 4-bromo-1-metil-1H-pirazol-3-metanol (720 mg, 3,77 mmol) en

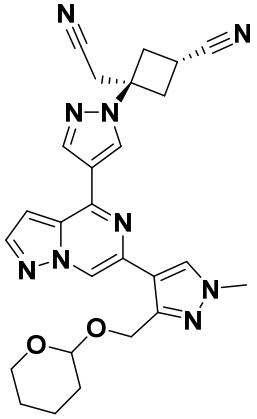
THF (30 ml), se agregaron DHP (951 mg, 11,3 mmol) y PTSA (14 mg, 0,075 mmol). La solución se agitó a alrededor de 50 °C durante alrededor de 16 h. La mezcla se concentró, y el residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título como un aceite incoloro (1,0 g, 84 %).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.37 (s, 1 H), 4.81 (t, 1 H), 4.74 (d, 1 H), 4.46 (d, 1 H), 3.96 - 4.03 (m, 1 H), 3.88 (s, 3 H), 3.56 - 3.63 (m, 1 H), 1.80 - 1.93 (m, 1 H), 1.59 - 1.78 (m, 3 H), 1.48 - 1.57 (m, 2 H).

LCMS m/z = 190.7 $[MH-THP]^+$

Preparación 62

(1s,3s)-3-(cianometil)-3-(4-(6-(1-metil-3-(((tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)metil)-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutan-1-carbonitrilo



Parte 1

A una solución de 4-bromo-1-metil-3-(((tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)metil)-1H-pirazol (**Preparación 61**, 200 mg, 0,73 mmol) en 1,4-dioxano (10 ml), se agregaron KOAc (313 mg, 3,19 mmol) y bis(pinacolato)diboro (405 mg, 1,59 mmol). La mezcla se purgó con nitrógeno durante alrededor de 5 min antes de agregar $Pd(dppf)Cl_2$ (78 mg, 0,11 mmol). La mezcla se calentó a alrededor de 90 °C durante alrededor de 18 h. La mezcla se concentró para obtener una muestra impura de 1-metil-3-(((tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)metil)-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol como un aceite negro (234 mg), que se usó en la siguiente Parte 2 sin purificación adicional.

Parte 2

Una mezcla de (1r,3r)-3-(4-(6-cloropirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-3-(cianometil)ciclobutan-1-carbonitrilo (**Preparación 75**, 85 mg, 0,25 mmol), 1-metil-3-(((tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)metil)-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol (**Parte 1**, 81 mg, 0,25 mmol) y K_3PO_4 ac. 2 M (1,0 ml) en 1,4-dioxano (3,0 ml) se purgó con argón durante alrededor de 2 min, después de lo cual se agregó XPhos Pd

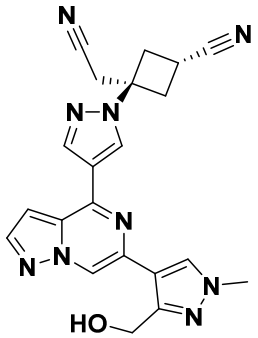
G2 (39 mg, 0,050 mmol). La mezcla de reacción se calentó a alrededor de 45 °C durante alrededor de 45 min. La fase de 1,4-dioxano se separó de la fase acuosa, que se volvió a extraer con EtOAc (5 ml). Los extractos de 1,4-dioxano y EtOAc combinados se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título (50 mg, 40 %).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 8.92 (s, 1 H), 8.45 (s, 1 H), 8.33 (s, 1 H), 8.07 - 8.10 (m, 1 H), 8.00 (s, 1 H), 6.96 (d, 1 H), 5.02 (d, 1 H), 4.87 - 4.91 (m, 1 H), 4.70 (m, 1 H), 4.59 (d, 1 H), 4.51 (d, 1 H), 3.99 (s, 3 H), 3.51 - 3.62 (m, 2 H), 3.34 - 3.44 (m, 1 H), 3.29 (s, 2 H), 2.99 (m, 2 H), 1.80 - 1.96 (m, 3 H), 1.68 - 1.80 (m, 3 H).

LCMS m/z = 498.3 $[MH]^+$

Ejemplo 22

(1r,3r)-3-(cianometil)-3-(4-(6-(3-(hidroximetil)-1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutan-1-carbonitrilo



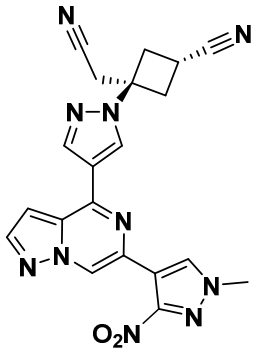
Se agregó PTSA (10 mg, 0,052 mmol) a la solución de (1s,3s)-3-(cianometil)-3-(4-(6-(1-metil-3-(((tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)metil)-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutan-1-carbonitrilo (**Preparación 62**, 50 mg, 0,10 mmol) en MeOH (10 ml). La mezcla de reacción se mantuvo a alrededor de 20 °C durante alrededor de 18 h. El sólido precipitado se filtró para obtener el compuesto del título (20 mg, 48 %).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 9.00 (s, 1 H), 8.91 (s, 1 H), 8.48 (s, 1 H), 8.35 (s, 1 H), 8.22 (d, 1 H), 7.47 (d, 1 H), 5.41 (br. s., 1 H), 4.66 (s, 2 H), 3.88 (s, 3 H), 3.54 - 3.62 (m, 1 H), 3.52 (s, 2 H), 3.28 - 3.34 (m, 2 H), 2.90 - 2.98 (m, 2 H).

LCMS m/z = 414.4 $[MH]^+$

Preparación 63

(1r,3r)-3-(cianometil)-3-(4-(6-(1-metil-3-nitro-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutan-1-carbonitrilo



Parte 1

A una solución de 4-bromo-1-metil-3-nitro-1H-pirazol (200 mg, 0,97 mmol) en 1,4-dioxano (10 ml), se agregaron KOAc (285 mg, 2,90 mmol) y bis(pinacolato)diboro (368 mg, 1,45 mmol). La mezcla se purgó con nitrógeno durante alrededor de 5 min, después de lo cual se agregó Pd(dppf)Cl_2 (70,8 mg, 0,097 mmol). La mezcla se calentó at alrededor de 90 °C durante alrededor de 18 h. La mezcla se concentró para obtener 1-metil-3-nitro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol impuro como un aceite negro, que se usó sin purificación adicional en la Parte 2.

Parte 2

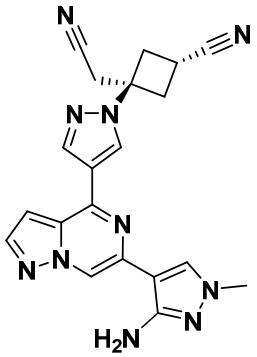
Una mezcla de (1r,3r)-3-(4-(6-cloropirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-3-(cianometil)ciclobutan-1-carbonitrilo (**Preparación 75**, 130 mg, 0,38 mmol), 1-metil-3-nitro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol (**Parte 1**, 97 mg, 0,38 mmol) y K_3PO_4 ac. 2 M (2,0 ml) en 1,4-dioxano (6,0 ml) se purgó con argón durante alrededor de 2 min, después de lo cual se agregó **XPhos Pd G2** (60,6 mg, 0,077 mmol). La mezcla se calentó a alrededor de 45 °C durante alrededor de 45 min. La fase de 1,4-dioxano se separó de la fase acuosa, que se volvió a extraer con EtOAc (10 ml). Los extractos de 1,4-dioxano y EtOAc combinados se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título (120 mg, 72%).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 9.10 (s, 1 H), 8.90 (s, 1 H), 8.56 (s, 1 H), 8.43 (s, 1 H), 8.32 (d, 1 H), 7.56 (br. s., 1 H), 4.05 (s, 3 H), 3.54 - 3.60 (m, 1 H), 3.51 (s, 2 H), 3.18 - 3.29 (m, 2 H), 2.88 - 2.98 (m, 2 H).

LCMS m/z = 429.4 $[MH]^+$

Ejemplo 23

(1r,3r)-3-(4-(6-(3-amino-1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-3-(cianometil)ciclobutan-1-carbonitrilo



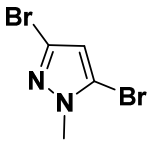
A una solución de (1r,3r)-3-(cianometil)-3-(4-(6-(1-metil-3-nitro-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutan-1-carbonitrilo (**Preparación 63**, 120 mg, 0,28 mmol) en EtOH (3 ml) y agua (0,5 ml), se agregaron NH_4Cl (90 mg, 1,68 mmol) y hierro en polvo (50 mg, 0,90 mmol). La reacción se agitó a alrededor de 60 °C durante alrededor de 18 h, después de lo cual se agregaron porciones adicionales de hierro en polvo y NH4Cl. La mezcla se calentó a alrededor de 100 °C durante alrededor de 3 h. La mezcla se concentró, y se agregó EtOH caliente (20 ml). Los sólidos no disueltos se retiraron mediante filtración. El filtrado se concentró, y el residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título como un sólido blanco (10 mg, 9 %).

^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ: 8.74 (s, 1 H), 8.67 (s, 1 H), 8.40 (s, 1 H), 8.08 (d, 1 H), 7.94 (s, 1 H), 7.24 (d, 1 H), 3.77 (s, 3 H), 3.47 - 3.55 (m, 1 H), 3.43 (s, 2 H), 3.34 - 3.41 (m, 2 H), 2.98 (dd, 2 H).

LCMS m/z = 399.4 $[MH]^+$

Preparación 64

3,5-dibromo-1-metil-1H-pirazol



Una solución de 3,5-dibromopirazol (6,5 g, 28,7 mmol) en THF (30 ml) se agregó por goteo a una suspensión enfriada en hielo de NaH (2,88 g, 60 % en aceite mineral, 71,9 mmol) en THF (45 ml). La mezcla se agitó a alrededor de 0 °C durante alrededor de 1 h. Se agregó yodometano (5,37 ml, 86,3 mmol), y la mezcla se agitó a alrededor de 0 °C durante alrededor de 3 h, luego la agitación continuó a alrededor de 15 °C durante alrededor de 2 h. La mezcla se vertió en NH_4Cl ac. saturado (20 ml) y se extrajo con EtOAc (40 ml). El extracto de EtOAc se lavó con salmuera (20 ml), se secó (Na_2SO_4) y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto

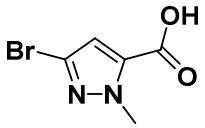
del título como un aceite incoloro (5,5 g, 79%).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 6.31 (s, 1 H), 3.87 (s, 3 H).

LCMS m/z = 240.6 $[MH]^+$ (isótopo ^{79}Br, ^{81}Br)

Preparación 65

Ácido 3-bromo-1-metil-1H-pirazol-5-carboxílico



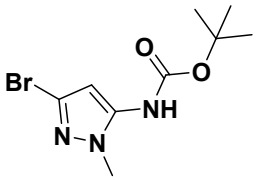
Una solución de 3,5-dibromo-1-metil-1H-pirazol (**Preparación 64**, 3,0 g, 12,5 mmol) en THF (30 ml) se trató por goteo con n-BuLi (2,5 M, 6,25 ml, 15,6 mmol) a alrededor de -70 °C. Después de alrededor de 30 min a esta temperatura, se agregó por goteo una solución de CO_2 en THF (30 ml) mientras se mantenía la temperatura interna por debajo de alrededor de -65 °C. La mezcla se agitó a esta temperatura durante alrededor de 1 h. La mezcla de reacción luego se vertió en HCl ac. 1 M (50 ml), y la mezcla se concentró parcialmente para eliminar la mayor parte de THF. La capa acuosa se extrajo con DCM (50 ml). El extracto de DCM se secó (Na_2SO_4) y se concentró para obtener el compuesto del título como un sólido amarillo (2,1 g, 81 %).

^{1}HNMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 13.70 (br s, 1H), 6.95 (s, 1H), 4.04 (s, 3H).

LCMS m/z = 206.9 $[MH]^+$ (isótopo ^{81}Br)

Preparación 66

***Ter*-butil (3-bromo-1-metil-1H-pirazol-5-il)carbamato**



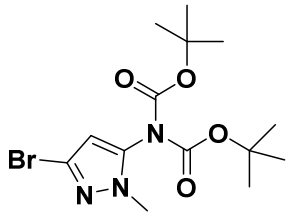
Se agregó difenilfosforilazida (18,8 g, 68,5 mmol) a una solución de ácido 5-bromo-2-metil-2H-pirazol-3-carboxílico (**Preparación 65**, 7,02 g, 34,2 mmol) y DIPEA (11,9 ml, 68,5 mmol) en t-butanol (114 ml). La mezcla se agitó a alrededor de 45 °C durante alrededor de 30 min, luego se calentó a reflujo durante alrededor de 5 h. La mezcla enfriada se diluyó con EtOAc (60 ml) y se lavó con $NaHCO_3$ ac. saturado (2 x 30 ml) y salmuera (20 ml). El extracto de EtOAc se concentró, y el residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título como un sólido amarillo (4,80 g, 51%).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 6.28 (br s, 1H), 6.18 (s, 1H), 3.73 (s, 3H), 1.50 (s, 9H).

LCMS m/z = 221.7 $[MH-C_4H_8]^+$ (isótopo ^{81}Br)

Preparación 67

3-bromo-1-metil-5-(diBoc)-amino-1H-pirazol



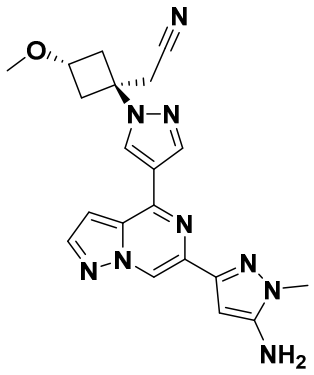
Se agregó di-*ter*-butil dicarbonato (1,58 g, 7,24 mmol) a una solución de ter-butil (3-bromo-1-metil-1H-pirazol-5-il)carbamato (**Preparación 66**, 2,0 g, 7,24 mmol), TEA (4,04 ml, 29,0 mmol) y DMAP (177 mg, 1,45 mmol) en DCM (40 ml). La mezcla se agitó a alrededor de 20 °C durante alrededor de 18 h. Se agregó agua (25 ml), y la mezcla se extrajo con DCM (2 x 30 ml). Los extractos de DCM combinados se concentraron, y el residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título (1,85 g, 67 %).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 6.06 - 6.20 (m, 1 H), 3.64 (s, 3 H), 1.44 (s, 18 H).

LCMS m/z = 378.2 $[MH]^+$ (isótopo ^{81}Br)

Ejemplo 24

2-((1r,3s)-1-(4-(6-(5-amino-1-metil-1H-pirazol-3-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-3-metoxiciclobutil)acetonitrilo



Parte 1

Una mezcla de 3-bromo-1-metil-5-(diBoc)-amino-1H-pirazol (**Preparación 67**, 1200 mg, 3,19 mmol), KOAc (988 mg, 9,57 mmol) y bis(pinacolato)diboro (1210 mg, 4,78 mmol) en 1,4-dioxano (15 ml) se purgó con argón durante alrededor de 5 minutos antes de agregar XPhos Pd G2 (502 mg, 0,64 mmol). La mezcla de reacción se calentó a alrededor de 65 °C durante alrededor de 3,5 h, luego se agregaron 2-((1s,3r)-1-(4-(6-cloropirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-3-metoxiciclo-butil)acetonitrilo (**Preparación 100**, 1090 mg, 3,19 mmol), K_3PO_4 ac. 2 M (4,78 ml) y XPhos Pd G2 (502

mg, 0,64 mmol). La mezcla se volvió a purgar con argón, luego se calentó a alrededor de 80 °C durante alrededor de 1 h. Se agregó EtOAc, y las fases se separaron. La fase acuosa se extrajo dos veces más con EtOAc, y los extractos de EtOAc combinados se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía para obtener una mezcla de intermediarios de mono- y di-BOC (710 mg, 36 %) que se usó en la Parte 2.

Parte 2

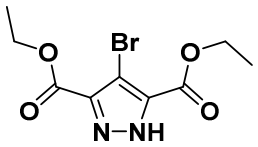
Se agregó TFA (6 ml, 80 mmol) a una solución de los intermediarios de mono- y di-BOC de la Parte 1 (710 mg, 1,18 mmol) en DCM (6 ml) a alrededor de 20 °C. Después de alrededor de 1 h, la mezcla se concentró. Se agregó DCM, y luego $NaHCO_3$ ac. saturado suficiente para tornar el pH de la solución básico. Las fases se separaron, y la fase acuosa se extrajo dos veces más con DCM. Los extractos de DCM combinados se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron. Una reacción equivalente usando el compuesto de la Parte 1 (220 mg, 0,36 mmol) y TFA (2 ml, 30 mmol) en DCM (2 ml) se combinó con el material de la reacción anterior, y las muestras combinadas se purificaron mediante cromatografía para obtener el compuesto del título como una goma transparente (470 mg, 99 %).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 8.81 (s, 1 H), 8.73 (s, 1 H), 8.40 (s, 1 H), 8.21 (d, 1 H), 7.44 (d, 1 H), 5.33 (br. s, 2 H), 3.94 - 4.02 (m, 1 H), 3.62 (s, 3 H), 3.44 (s, 2 H), 3.21 (s, 3 H), 3.14 - 3.20 (m, 2 H), 2.39 - 2.45 (m, 2 H).

LCMS m/z = 404.5 $[MH]^+$

Preparación 68

Dietil 4-bromo-1H-pirazol-3,5-dicarboxilato

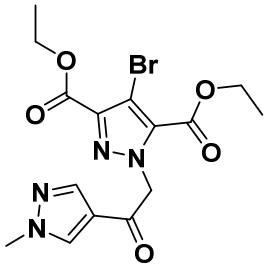


Una mezcla de dietiléster del ácido 1H-pirazol-3,5-dicarboxílico (4,0 g, 18,85 mmol) y N-bromosuccinimida (4,03 g, 22,6 mmol) en una mezcla de ácido nítrico conc. y ácido acético glacial (12,0 ml, 5:95 v/v) se calentó mediante irradiación en microondas a alrededor de 120 °C durante alrededor de 20 minutos. Un total de 13,0 g (61,26 mmol) de material de inicio de dietiléster del ácido 1H-pirazol-3,5-dicarboxílico se procesó de esta manera en lotes paralelos. Las mezclas de reacción crudas resultantes de color marrón se combinaron, se vertieron en agua (260 ml) y se trataron con $NaHCO_3$ suficiente para tornar el pH de la solución básico. La mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 300 ml). Los extractos de EtOAc combinados se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron para obtener el compuesto del título como un sólido blancuzco (17,0 g, 95 %).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 8.79 (br. s., 1 H), 4.44 (q, 4 H), 1.42 (t, 6 H).
LCMS m/z = 290.7 $[MH]^+$ (isótopo ^{79}Br)

Preparación 69

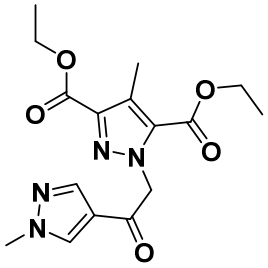
Dietil 4-bromo-1-(2-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-2-oxoetil)-1H-pirazol-3,5-dicarboxilato



Una solución de dietiléster del ácido 4-bromo-1H-pirazol-3,5-dicarboxílico (**Preparación 68**, 9,66 g, 33,18 mmol) y 2-bromo-1-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-etanona (**Preparación 6,** 6,0 g, 29,55 mmol) en MeCN (140 ml) se trató con K_2CO_3 (5,31 g, 38,40 mmol), y la mezcla de reacción se agitó a alrededor de 25 °C durante alrededor de 16 h. Se agregó agua (100 ml), y la mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 100 ml). Los extractos de EtOAc combinados se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título como un sólido blanco (10,0 g, 82 %).
^{1}HNMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.95 (s, 1 H), 7.92 (s, 1 H), 5.82 (s, 2 H), 4.43 (q, 2 H), 4.36 (q, 2 H), 3.96 (s, 3 H), 1.45 (t, 3 H), 1.35 (t, 3 H).
LCMS m/z = 436.8 $[MNa]^+$ (isótopo ^{81}Br)

Preparación 70

Dietil 4-metil-1-(2-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-2-oxoetil)-1H-pirazol-3,5-dicarboxilato



Una mezcla de K_2CO_3 (11,0 g, 79,9 mmol) y dietiléster del ácido 4-bromo-1H-[2-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-2-oxo-etil]-1H-pirazol-3,5-dicarboxílico (**Preparación 69**, 11,0 g, 26,62 mmol) en DMF (133,0 ml) se purgó con nitrógeno a alrededor de 25 °C, después de lo cual se agregaron $Pd(dppf)Cl_2$ (1950 mg, 2,66 mmol) y trimetilboroxina (10,0 g, 79,9 mmol), y la solución se calentó a alrededor de 110 °C durante alrededor de 5 h. La reacción enfriada se diluyó con EtOAc (100 ml), y la mezcla resultante se lavó con

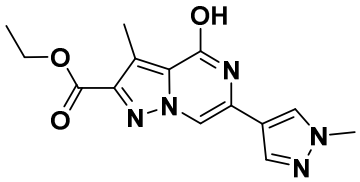
salmuera (2 x 100 ml), se secó (Na_2SO_4) y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título como un sólido amarillo (5,45 g, 50%).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.92 (s, 1 H), 7.90 (s, 1 H), 5.78 (s, 2 H), 4.41 (q, 2 H), 4.28 (q, 2 H), 3.95 (s, 3 H), 2.58 (s, 3 H), 1.39 (t, 3 H), 1.31 (t, 3 H).

LCMS m/z = 348.9 $[MH]^+$

Preparación 71

Etil 4-hidroxi-3-metil-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-2-carboxilato



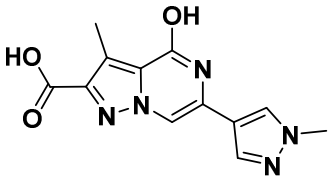
Dietiléster del ácido 4-metil-[2-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-2-oxo-etil]-1H-pirazol-3,5-dicarboxílico (**Preparación 70**, 5,35 g, 15,36 mmol) se mezcló con EtOH seco (15 ml) y se concentró. El sólido resultante se disolvió en EtOH (40 ml), y se agregó NH_4OAc (3,55 g, 46,1 mmol). La mezcla de reacción se calentó a alrededor de 130 °C en una autoclave durante alrededor de 8 h. Después de enfriarla, la mezcla se filtró, y el precipitado se secó para obtener el compuesto del título como un sólido blancuzco (3,40 g, 73 %).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 11.45 (br. s., 1 H), 8.27 (s, 1 H), 8.08 (s, 1 H), 8.02 (s, 1 H), 4.31 (m, 2 H), 3.87 (s, 3 H), 2.61 (s, 3 H), 1.24 - 1.40 (m, 3 H).

LCMS m/z = 301.8 $[MH]^+$

Preparación 72

Ácido 4-hidroxi-3-metil-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-pirazolo[1,5-a]pirazin-2-carboxílico

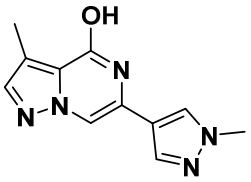


Se agregó hidróxido de litio monohidrato (1,42 g, 33,9 mmol) a una suspensión de etiléster del ácido 4-hidroxi-3-metil-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-pirazolo[1,5-a]pirazin-2-carboxílico (**Preparación 71**, 3,40 g, 11,3 mmol) en THF (50 ml), MeOH (50 ml) y agua (25 ml). La mezcla se agitó a alrededor de 60 °C durante alrededor de 4 h. La mezcla enfriada se concentró, y se agregó agua (50 ml). El pH de la mezcla se ajustó a alrededor de 2 mediante la adición de HCl ac. 12 M. El precipitado resultante se filtró y se lavó con agua (50 ml), luego se secó al vacío para obtener el compuesto del título como un sólido.

^{1}HNMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 12.90 - 13.20 (br. s, 1 H), 11.40 (s, 1 H), 8.30 (s, 1 H), 8.02 (m, 2 H), 3.90 (s, 3 H), 2.60 (s, 3 H).
LCMS m/z = 301.8 $[MH]^+$, 323.8 $[MNa]^+$

Preparación 73

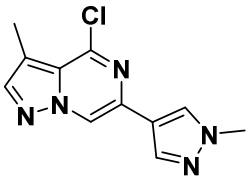
3-metil-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-pirazolo[1,5-a]pirazin-4-ol



Se agregó ácido 4-hidroxi-3-metil-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-pirazolo[1,5-a]pirazin-2-carboxílico (**Preparación 72**, 2,58 g, 9,44 mmol) en porciones a sulfolano precalentado (18,9 ml) a alrededor de 280 °C. Una vez que se completó la adición, la mezcla se agitó durante 1 h más a alrededor de 280 °C. La mezcla enfriada se purificó directamente mediante cromatografía en gel de sílice (que se eluyó con éter de petroleo:EtOAc (100:0 a 50:50), luego DCM:MeOH (91:9)), para obtener el compuesto del título como un sólido amarillo (1,50 g, 69 %).
^{1}HNMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 11.20 (s, 1 H), 8.38 (s, 1 H), 8.02 (s, 1 H), 7.96 (s, 1 H), 7.70 (s, 1 H), 3.85 (s, 3 H), 2.40 (s, 3 H).

Preparación 74

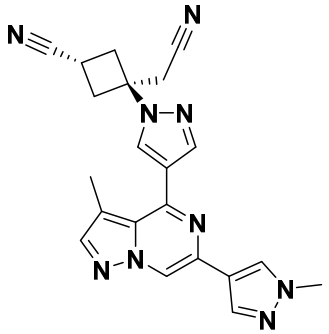
4-cloro-3-metil-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-pirazolo[1,5-a]pirazina



A una suspensión de 3-metil-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-pirazolo[1,5-a]pirazin-4-ol (**Preparación 73**, 1,40 g, 6,11 mmol) en MeCN (60,0 ml), se agregó $POCl_3$ (4,68 g, 30,5 mmol). La mezcla de reacción se calentó a alrededor de 80 °C durante alrededor de 16 h. Después de enfriarla, la mezcla se vertió en agua (200 ml) a alrededor de 25 °C. La mezcla se ajustó a alrededor de pH 9 mediante la adición de $NaHCO_3$ ac. saturado (200 ml), luego se extrajo con EtOAc (5 x 100 ml). Los extractos de EtOAc combinados se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía, luego se volvió a purificar mediante HPLC para obtener el compuesto del título como un sólido blanco (163 mg, 11 %).
^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 8.37 (s, 1 H), 7.89 (s, 1 H), 7.85 (s, 1 H), 7.80 (s, 1 H), 3.96 (s, 3 H), 2.57 (s, 3 H). LCMS m/z = 247.7 $[MH]^+$ (isótopo ^{35}Cl)

Ejemplo 25

(1r,3r)-3-(cianometil)-3-(4-(3-metil-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutan-1-carbonitrilo



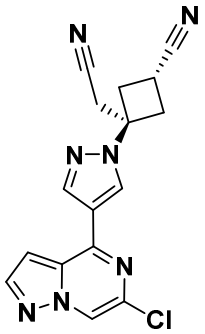
A una solución de 4-cloro-3-metil-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-pirazolo[1,5-a]pirazina (**Preparación 74**, 98 mg, 0,40 mmol) y (1r,3r)-3-(cianometil)-3-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutan-1-carbonitrilo (**Preparación 91**, 247 mg, 0,79 mmol) en 1,4-dioxano (9 ml), se agregó K_3PO_4 ac. 2 M (0,59 ml) a alrededor de 25 °C, y la mezcla se purgó con nitrógeno durante alrededor de 2 min antes de agregar XPhos Pd G2 (62,3 mg, 0,079 mmol). La mezcla se purgó con nitrógeno durante alrededor de 3 min, luego se calentó a alrededor de 80 °C durante alrededor de 16 h. La mezcla se filtró y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía, luego se volvió a purificar mediante HPLC para obtener el compuesto del título como un sólido amarillo claro (56 mg, 36 %).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ: 8.98 (s, 1 H), 8.94 (s, 1 H), 8.60 (s, 1 H), 8.27 (s, 1 H), 8.22 (s, 1 H), 8.10 (s, 1 H), 7.98 (s, 1 H), 3.90 (s, 3 H), 3.52 - 3.57 (m, 3 H), 3.19 - 3.26 (m, 2 H), 2.91 - 2.97 (m, 2 H), 3.06 (s, 3 H).

LCMS m/z = 398.0 $[MH]^+$

Preparación 75

(1r,3r)-3-(4-(6-cloropirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-3-(cianometil)ciclobutan-1-carbonitrilo



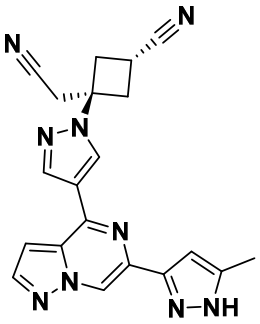
Una mezcla de 4,6-dicloropirazolo[1,5-a]pirazina (**Preparación 4**, 350 mg, 1,86 mmol), (1r,3r)-3-(cianometil)-3-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutan-1-carbonitrilo (**Preparación 91**, isómero trans, 581 mg, 1,86 mmol) y K_3PO_4 ac. 2 M (2,79 ml) en 1,4-dioxano (10 ml) se purgó con argón durante alrededor de 5 min, después de lo cual se agregó bis(tri-t-butilfosfina)paladio(0) (48,0 mg, 0,093 mmol). La mezcla se mantuvo a alrededor de 25 °C durante alrededor de 2 h, luego se filtró. El precipitado se lavó con Et_2O y se secó. El filtrado se concentró, se trituró con Et_2O, se filtró, se lavó con Et_2O y se secó. Los dos precipitados se combinaron para obtener el compuesto del título como un sólido blanco (605 mg, 96 %).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 9.05 (d, 1 H), 8.93 (s, 1 H), 8.46 (s, 1 H), 8.32 (d, 1 H), 7.61 (d, 1 H), 3.55 - 3.62 (m, 1 H), 3.54 (s, 2 H), 3.24 - 3.32 (m, 2 H), 2.89 - 3.00 (m, 2 H).

LCMS m/z = 338.2 $[MH]^+$

Ejemplo 26

(1r,3r)-3-(cianometil)-3-(4-(6-(5-metil-1H-pirazol-3-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutan-1-carbonitrilo



Parte 1

Una mezcla de (1r,3r)-3-(4-(6-cloropirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-3-(cianometil)ciclobutan-1-carbonitrilo (**Preparación 75**, 85 mg, 0,25 mmol), 3-metil-1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol (**Preparación 93**, 73 mg, 0,25 mmol) y K_3PO_4 ac. 2 M (1,0 ml) en 1,4-dioxano (3,0 ml) se purgó con argón durante alrededor de 2 min, después de lo cual se agregó **XPhos Pd G2** (39,6 mg, 0,050 mmol). La mezcla se calentó a alrededor de 45 °C durante alrededor de 45 min, luego se enfrió y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía para obtener (1r,3r)-3-(cianometil)-3-(4-(6-(5-metil-1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazol-3-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutan-1-carbonitrilo (26 mg, 22 %) que se usó directamente en la Parte 2.

LCMS m/z = 384.3 $[MH-THP]^+$

Parte 2

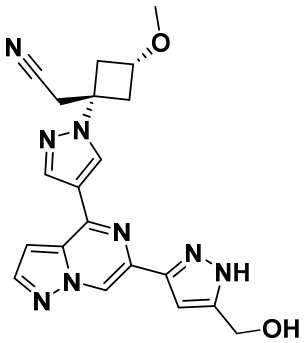
Se agregó TFA (1 ml) a una solución de (1r,3r)-3-(cianometil)-3-(4-(6-(5-metil-1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazol-3-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutan-1-carbonitrilo (26 mg, 0,055 mmol) en DCM (2 ml). La mezcla de reacción se calentó hasta alrededor de 50 °C durante alrededor de 1 h. La mezcla se concentró, y el residuo se concentró dos veces con tolueno (5 ml cada vez). El residuo luego se purificó mediante cromatografía para obtener un sólido, que se volvió a triturar con éter para obtener el compuesto del título (8 mg, 38 %).

^{1}H NMR (400 MHz, CD_3CN) δ: 8.87 (s, 1 H), 8.66 (s, 1 H), 8.48 (s, 1 H), 8.15 (d, 1 H), 7.23 (s, 1 H), 6.73 (s, 1 H), 3.46 (dd, 1 H), 3.36 (s, 2 H), 3.32 - 3.41 (m, 2 H), 2.98 (dd, 2 H), 2.37 (s, 3 H).

LCMS m/z = 384.4 $[MH]^+$

Ejemplo 27

2-((1s,3r)-1-(4-(6-(5-(hidroximetil)-1H-pirazol-3-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-3-metoxiciclobutil)acetonitrilo



Una solución de 2-((1s,3r)-1-(4-(6-cloropirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-3-metoxiciclobutil)acetonitrilo (**Preparación 82**, 100 mg, 0,29 mmol) y (3-(tributilestannil)-1H-pirazol-5-il)metanol (**Preparación 32**, 113 mg, 0,29 mmol) en 1,4-dioxano (2 ml) se purgó con argón durante 5 min, luego se agregó **XPhos Pd G2** (45,9 mg, 0,058 mmol). La mezcla se calentó a alrededor de 80 °C durante alrededor de 18 h. El precipitado resultante se filtró, se lavó con 1,4-dioxano y Et_2O, y se secó para obtener el compuesto del título como un sólido blanco (62 mg, 53 %).

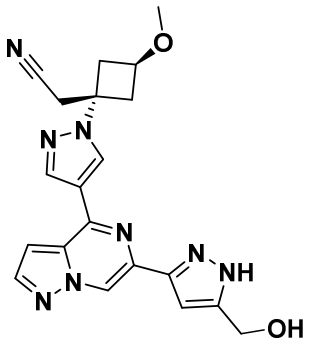
^{1}H NMR (400 MHz, CD_3CN) δ: 8.86 (s, 1 H), 8.58 (s, 1 H), 8.44 (s, 1 H), 8.13 (d, 1 H), 7.21 (d, 1 H), 6.85 (s, 1 H), 4.65 (d, 2 H), 4.05 (quin, 1 H), 3.27 (s, 3 H), 3.21 (s, 2 H), 2.90 - 2.99 (m, 2 H), 2.67 - 2.76 (m, 2 H).

LCMS m/z = 405.3 $[MH]^+$

Ejemplo 28

2-((1r,3s)-1-(4-(6-(5-(hidroximetil)-1H-pirazol-3-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-

pirazol-1-il)-3-metoxiciclobutil)acetonitrilo



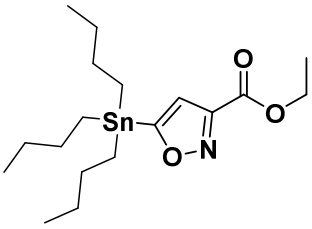
Una solución de 2-((1r,3s)-1-(4-(6-cloropirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-3-metoxiciclobutil)acetonitrilo (**Preparación 39**; 1000 mg, 2,92 mmol) y (3-(tributilestannil)-1H-pirazol-5-il)metanol (**Preparación 32**, 1130 mg, 2,92 mmol) en 1,4-dioxano (2 ml) se purgó con argón durante 5 min, luego se agregó **XPhos Pd G2** (45,9 mg, 0,058 mmol). La mezcla se calentó a alrededor de 80 °C durante alrededor de 18 h. El precipitado se filtró y luego se purificó mediante cromatografía para obtener un sólido blancuzco. El sólido se calentó en suficiente EtOH en ebullición hasta que se disolvió por completo, y luego se agitó durante alrededor de 18 h a alrededor de 20 °C. El precipitado se filtró y se secó al vacío para obtener el compuesto del título como un sólido cristalino (507 mg, 43 %).

^{1}H NMR (400 MHz, CD_3CN) δ: 11.48 (br. s.), 8.89 (s), 8.65 (s), 8.46 (s), 8.15 (d), 7.23 (s), 6.87 (s), 4.67 (d), 4.08 (quin), 3.31 (s), 3.30 (s), 3.15 - 3.25 (m), 2.53 (dd).

LCMS m/z = 405.3 $[MH]^+$

Preparación 76

Etil 5-(tributilestannil)isoxazol-3-carboxilato

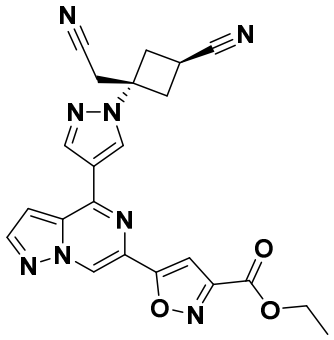


Se agregó por goteo TEA (0,69 ml, 4,95 mmol) a una solución helada de etil 2-cloro-2-(hidroxiimino)acetato (500 mg, 3,30 mmol) y etiniltributilestannano (1040 mg, 3,30 mmol) en Et_2O (10 ml). La mezcla de reacción se calentó hasta alrededor de 20 °C y se mantuvo durante alrededor de 18 h. La mezcla se concentró, y el residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título como un aceite incoloro (810 mg, 57 %).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 6.80 (s, 1 H), 6.77 - 6.84 (m, 1 H), 4.45 (q, 2 H), 1.51 - 1.63 (m, 6 H), 1.43 (t, 3 H), 1.34 (dq, 6 H), 1.15 - 1.26 (m, 6 H), 0.90 (t, 9 H).
LCMS m/z = 454.2 $[MNa]^+$ (isótopo ^{120}Sn)

Preparación 77

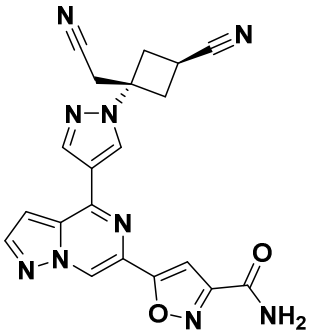
Etil 5-(4-(1-((1r,3r)-3-ciano-1-(cianometil)ciclobutil)-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-6-il)isoxazol-3-carboxilato



Una solución de (1r,3r)-3-(4-(6-cloropirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-3-(cianometil)ciclobutan-1-carbonitrilo (**Preparación 75**, 110 mg, 0,33 mmol) y etil 5-(tributilestannil)isoxazol-3-carboxilato (**Preparación 76**, 140 mg, 0,33 mmol) en 1,4-dioxano (3 ml) se purgó con argón durante alrededor de 5 min, y luego se agregó **XPhos Pd G2** (51,2 mg, 0,065 mmol). La mezcla se calentó a alrededor de 100 °C durante alrededor de 5 h. La mezcla se concentró, y el residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título como un sólido amarillo claro (66 mg, 45 %).
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 9.44 (s, 1 H), 9.02 (s, 1 H), 8.60 (s, 1 H), 8.42 (d, 1 H), 7.65 (d, 1 H), 7.62 (s, 1 H), 4.44 (q, 2 H), 3.54 - 3.63 (m, 1 H), 3.53 (s, 2 H), 3.26 - 3.36 (m, 2 H), 2.90 - 2.98 (m, 2 H), 1.37 (t, 3 H).
LCMS m/z = 443.3 $[MH]^+$

Ejemplo 29

5-(4-(1-((1r,3r)-3-ciano-1-(cianometil)ciclobutil)-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-6-il)isoxazol-3-carboxamida



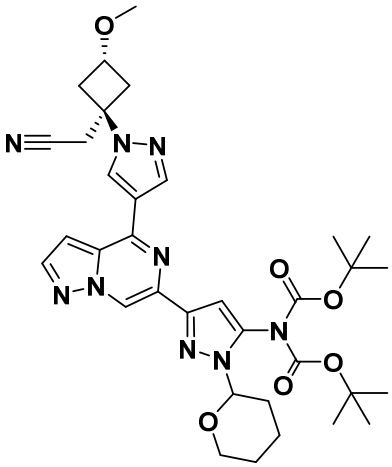
Una solución de etil 5-(4-(1-((1r,3r)-3-ciano-1-(cianometil)ciclobutil)-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-6-il)isoxazol-3-carboxilato (**Preparación 77**, 54 mg, 0,12 mmol) en metanol (3 ml) se trató con una solución 7 M de gas de amoníaco en metanol (2 ml, 14 mmol). El recipiente de reacción se selló herméticamente, y la mezcla se calentó a alrededor de 95 °C durante alrededor de 18 h. Después de enfriarla, el precipitado se filtró, se lavó con EtOAc y luego Et_2O, y se secó para obtener el compuesto del título como un sólido blanco (45 mg, 89 %).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 9.36 (s, 1 H), 9.01 (s, 1 H), 8.58 (s, 1 H), 8.41 (d, 1 H), 8.21 (br. s, 1 H), 7.91 (br. s, 1 H), 7.64 (d, 1 H), 7.50 (s, 1 H), 3.55 - 3.62 (m, 1 H), 3.53 (s, 2 H), 3.26 - 3.35 (m, 2 H), 2.90 - 2.98 (m, 2 H).

LCMS m/z = 414.3 $[MH]^+$

Preparación 78

2-((1r,3s)-1-(4-(6-(5-(DiBoc)-amino-1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-pirazol-3-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-3-metoxiciclobutil)acetonitrilo



Una mezcla de 3-bromo-1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-5-(diBoc)-amino-1H-pirazol (**Preparación 43**, 233 mg, 0,52 mmol), KOAc (162 mg, 1,57 mmol) y bis(pinacolato)diboro (199 mg, 0,78 mmol) en 1,4-dioxano (4 ml) se purgó con argón durante alrededor de 5 min, después de lo cual se agregó **XPhos Pd G2** (82,1 mg, 0,10

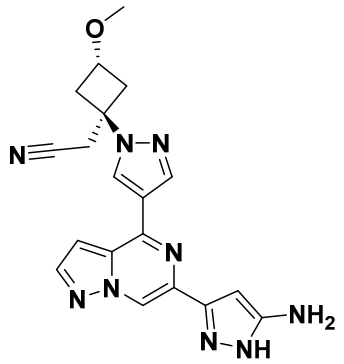
mmol). La mezcla se calentó a alrededor de 65 °C durante alrededor de 3,5 h. Después de enfriarla hasta alrededor de 20 °C, se agregaron 2-((1r,3s)-1-(4-(6-cloropirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-3-metoxiciclo-butil)aceto-nitrilo (**Preparación 39**, 125 mg, 0,36 mmol), K_3PO_4 ac. 2 M (0,783 ml) y XPhos Pd G2 (82,1 mg, 0,10 mmol). La mezcla se volvió a purgar con argón, luego se calentó a alrededor de 80 °C durante alrededor de 1 h. Después de enfriarla, la mezcla se diluyó con EtOAc, y las fases se separaron. La fase acuosa se extrajo dos veces con EtOAc, y los extractos de EtOAc combinados se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título como un aceite transparente (220 mg, 62 %).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 9.08 (s, 1 H), 8.39 (s, 1 H), 8.33 (s, 1 H), 8.09 (d, 1 H), 6.97 (d, 1 H), 6.90 (s, 1 H), 5.26 (dd, 1 H), 4.03 - 4.11 (m, 2 H), 3.64 (t, 1 H), 3.34 (s, 3 H), 3.25 (s, 2 H), 3.11 - 3.19 (m, 2 H), 2.55 - 2.63 (m, 2 H), 2.21 (m, 1 H), 1.93 (dd, 1 H), 1.59 - 1.84 (m, 4 H), 1.45 (s, 18 H).

LCMS m/z = 674.5 $[MH]^+$

Ejemplo 30

2-((1r,3s)-1-(4-(6-(3-amino-1H-pirazol-5-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-3-metoxiciclobutil)acetonitrilo



Se agregó TFA (3 ml) a una solución de 2-((1r,3s)-1-(4-(6-(5-(diBoc)-amino-1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-pirazol-3-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-3-metoxiciclobutil)acetonitrilo (**Preparación 78**, 220 mg, 0,33 mmol) en DCM (2 ml) a alrededor de 20 °C. Después de alrededor de 1 h a esta temperatura, la mezcla se concentró, y el residuo se disolvió en DCM y $NaHCO_3$ ac. saturado, garantizando que el pH fuera básico. El DCM se separó, y la fase acuosa se extrajo dos veces con DCM. Los extractos de DCM combinados se secaron (Na_2SO_4), se concentraron, y el residuo se purificó mediante cromatografía y luego HPLC para obtener el compuesto del título como un sólido blanco (17 mg, 13 %).

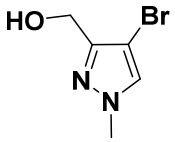
^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ: 8.89 (s, 1 H), 8.84 (s, 1 H), 8.54 (s, 1 H), 8.17 - 8.18 (m,

1 H), 7.34 (s, 1 H), 6.22 (s, 1 H), 4.09 - 4.12 (m, 1 H), 3.39 (s, 3 H), 3.22 - 3.27 (m, 2 H), 2.56 - 2.60 (m, 2 H).

LCMS m/z = 390.3 $[MH]^+$

Preparación 79

(4-bromo-1-metil-1H-pirazol-3-il)metanol



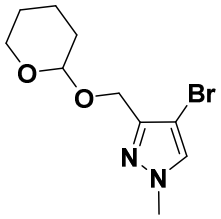
Se agregó borohidruro de sodio (3,4 g, 90 mmol) a una solución de etil 4-bromo-1-metil-1H-pirazol-3-carboxilato (4,2 g, 18 mmol) en EtOH anhidro (150 ml) a alrededor de 5 °C. La mezcla luego se calentó a alrededor de 50 °C durante alrededor de 16 h, después de lo cual se agregaron EtOAc (100 ml) y agua (100 ml). El EtOAc se separó, se secó (Na_2SO_4) y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título como un sólido blanco (1,05 g, 31 %).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 7.84 (s, 1 H), 5.01 (td, 1 H), 4.33 (d, 2 H), 3.77 (s, 3 H).

LCMS m/z = 192.7 $[MH]^+$ (isótopo ^{81}Br)

Preparación 80

4-bromo-1-metil-3-(((tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)metil)-1H-pirazol



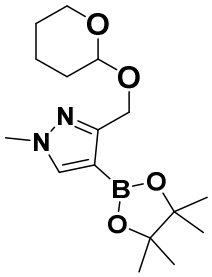
A una solución de (4-bromo-1-metil-1H-pirazol-3-il)metanol (**Preparación 79**, 1,00 mg, 5,23 mmol) en THF (30 ml), se agregaron DHP (1,32 g, 15,7 mmol) y PTSA (19,9 mg, 0,10 mmol). La solución se calentó a alrededor de 50 °C durante alrededor de 16 h. La mezcla se concentró, y el residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título como un aceite incoloro (1,02 g, 71 %).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.36 (s, 1 H), 4.80 (t, 1 H), 4.73 (d, 1 H), 4.45 (d, 1 H), 3.95 - 4.03 (m, 1 H), 3.87 (s, 3 H), 3.53 - 3.64 (m, 1 H), 1.78 - 1.93 (m, 1 H), 1.60 - 1.77 (m, 3 H), 1.45 - 1.60 (m, 2 H).

LCMS m/z = 174.6 $[MH\text{-}THP]^+$

Preparación 81

1-metil-3-(((tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)metil)-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol



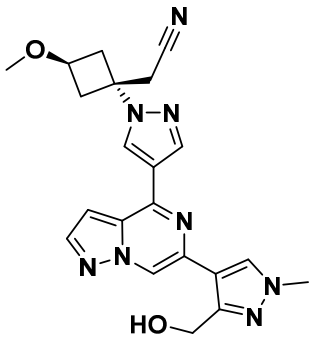
A una solución de 4-bromo-1-metil-3-(((tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)metil)-1H-pirazol (**Preparación 80**, 330 mg, 1,20 mmol) en DMF (12 ml) se agregaron bis(pinacolato)diboro (457 mg, 1,8 mmol) y KOAc (353 mg, 3,6 mmol). La mezcla se purgó con nitrógeno durante alrededor de 2 min, después de lo cual se agregó Pd(dppf)Cl_2 (87,8 mg, 0,12 mmol). La mezcla se calentó a alrededor de 90 °C durante alrededor de 16 h. La mezcla enfriada se filtró a través de una almohadilla de Celite®, y el filtro se lavó con metanol (15 ml). El filtrado se concentró para obtener el compuesto del título impuro como una goma oscura (1,17 g), que se usó en la siguiente etapa del Ejemplo 31 sin purificación adicional.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.61 (s, 1 H), 4.75 - 4.77 (m, 1 H), 4.50 - 4.57 (m, 2 H), 4.03 - 4.10 (m, 1 H), 3.91 - 3.98 (m, 1 H), 3.89 (s, 3 H), 1.81 - 1.90 (m, 1 H), 1.61 - 1.76 (m, 3 H), 1.49 - 1.56 (m, 2 H), 1.30 (s, 12 H).

LCMS m/z = 239.1 $[MH-THP]^+$

Ejemplo 31

2-((1r,3s)-1-(4-(6-(3-(hidroximetil)-1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-3-metoxiciclobutil)acetonitrilo



Parte 1

Una mezcla de 2-((1r,3s)-1-(4-(6-cloropirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-3-metoxi-ciclobutil)acetonitrilo (**Preparación 39**, 80 mg, 0,23 mmol), 1-metil-3-(((tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)metil)-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol (**Preparación 81,** 376 mg, 1,17 mmol) y K_3PO_4 ac. 2 M (0,35 ml) en 1,4-dioxano (2,5 ml) se trató con XPhos Pd G2 (18,4 mg, 0,023 mmol), y la mezcla se purgó con

nitrógeno. La mezcla se calentó a alrededor de 60 °C durante alrededor de 20 h. La mezcla se concentró, y el residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título como una goma amarilla. Esta muestra se combinó con el producto de una reacción equivalente que se realizó usando 2-((1r,3s)-1-(4-(6-cloropirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-3-metoxiciclobutil)acetonitrilo (**Preparación 39**, 120 mg, 0,35 mmol), 1-metil-3-(((tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)metil)-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol (**Preparación 81,** 564 mg, 1,75 mmol), K_3PO_4 ac. 2 M (0,525 ml) y XPhos Pd G2 (13,8 mg, 0,023 mmol) en 1,4-dioxano (3,5 ml) para obtener 2-((1r,3s)-3-metoxi-1-(4-(6-(1-metil-3-(((tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)metil)-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutil)acetonitrilo en un rendimiento total de 150 mg (51 %), que se usó en la Parte 2 sin purificación adicional.

Parte 2

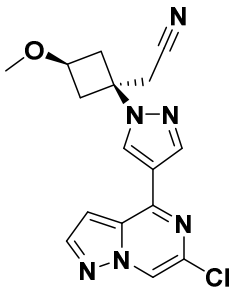
Se agregó TFA (1 ml) a una solución enfriada en hielo de 2-((1r,3s)-3-metoxi-1-(4-(6-(1-metil-3-(((tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)metil)-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutil)acetonitrilo (**Parte 1**, 150 mg, 0,30 mmol) en DCM (3 ml). La mezcla se agitó con enfriamiento en hielo durante alrededor de 2 h, luego se concentró. El residuo se purificó mediante HPLC para obtener el compuesto del título como un sólido amarillo claro (53 mg, 38 %).

^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ: 8.87 (s, 1 H), 8.69 (s, 1 H), 8.40 (s, 1 H), 8.21 (s, 1 H), 8.13 (d, 1 H), 7.28 (d, 1 H), 4.83 (s, 2 H), 4.05 - 4.14 (m, 1 H), 3.96 (s, 3 H), 3.37 (s, 2 H), 3.34 (s, 3 H), 3.18 - 3.27 (m, 2 H), 2.53 - 2.62 (m, 2 H).

LCMS m/z = 419.1 $[MH]^+$

Preparación 82

2-((1s,3r)-1-(4-(6-cloropirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-3-metoxiciclobutil)acetonitrilo



Parte 1

A una solución de 2-((1s,3r)-1-(4-bromo-1H-pirazol-1-il)-3-metoxiciclobutil)acetonitrilo (**Preparación 37**, isómero cis, 400 mg, 1,48 mmol) en tolueno (9 ml), se agregaron bis(pinacolato)diboro (564 mg, 2,22 mmol) y KOAc (436

mg, 4,44 mmol). La mezcla se purgó con nitrógeno durante alrededor de 3 min, después de lo cual se agregó $Pd(dppf)Cl_2$ (108 mg, 0,15 mmol). La mezcla se volvió a purgar con nitrógeno durante alrededor de 3 min, luego se calentó a alrededor de 110 °C durante alrededor de 16 h. La mezcla enfriada se concentró, y el residuo se purificó mediante cromatografía para obtener 2-((1s,3r)-3-metoxi-1-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutil)acetonitrilo impuro como un aceite amarillo claro (500 mg), que se usó en la Parte 2.

Parte 2

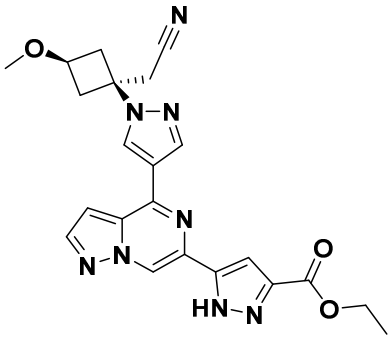
Una solución de 2-((1s,3r)-3-metoxi-1-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutil)acetonitrilo (**Parte 1**, 470 mg, 1,48 mmol) y 4,6-dicloropirazolo[1,5-a]pirazina (**Preparación 4**, 279 mg, 1,48 mmol) y K_2CO_3 ac. 2 M (2,22 ml) en 1,4-dioxano (10 ml) se purgó con nitrógeno durante alrededor de 2 min, después de lo cual se agregó $Pd(dppf)Cl_2$ (108 mg, 0,15 mmol). La mezcla se volvió a purgar con nitrógeno durante alrededor de 3 min, luego se calentó a alrededor de 90 °C durante alrededor de 16 h. La mezcla enfriada se concentró, y el residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título como un sólido amarillo (130 mg, 26 %).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 8.40 (s, 1 H), 8.35 (s, 1 H), 8.27 (s, 1 H), 8.08 (d, 1 H), 7.00 (s, 1 H), 4.05 (quin, 1 H), 3.30 (s, 3 H), 3.10 (s, 2 H), 3.00 (m, 2 H), 2.75 (m, 2 H).

LCMS m/z = 343.2 $[MH]^+$ (isótopo ^{35}Cl)

Preparación 83

Etil 5-(4-(1-((1s,3r)-1-(cianometil)-3-metoxiciclobutil)-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-6-il)-1H-pirazol-3-carboxilato



Una solución de 2-((1s,3r)-1-(4-(6-cloropirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-3-metoxiciclobutil)acetonitrilo (**Preparación 82**, 120 mg, 0,35 mmol) y etil 5-(tributilestannil)-1H-pirazol-3-carboxilato (**Preparación 31**, 150 mg, 0,35 mmol) en 1,4-dioxano (5 ml) se trató con XPhos Pd G2 (13,8 mg, 0,017 mmol), y la mezcla se purgó con nitrógeno durante alrededor de 2 min. La mezcla se calentó a alrededor de 110 °C

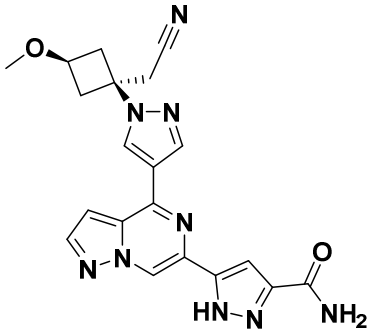
durante alrededor de 2 h. La mezcla enfriada se concentró, y el residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título como un sólido amarillo (180 mg).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 9.05 (br. s., 1 H), 8.39 (s, 1 H), 8.32 (s, 1 H), 8.14 (s, 1 H), 7.65 (s, 1 H), 7.02 (s, 1 H), 6.88 (s, 1 H), 4.44 - 4.50 (m, 2 H), 4.08 (t, 1 H), 3.80 (s, 3 H), 3.13 (s, 2 H), 3.00 - 3.08 (m, 2 H), 2.75 - 2.83 (m, 2 H), 1.46 (t, 3 H).

LCMS m/z = 447.1 $[MH]^+$

Ejemplo 32

5-(4-(1-((1s,3r)-1-(cianometil)-3-metoxiciclobutil)-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-6-il)-1H-pirazol-3-carboxamida



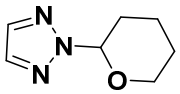
Una solución de etil 5-(4-(1-((1s,3r)-1-(cianometil)-3-metoxiciclobutil)-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-6-il)-1H-pirazol-3-carboxilato (**Preparación 83**, 100 mg, 0,22 mmol) en MeOH (2 ml) se trató con una solución 4 M de gas de amoníaco en metanol (1 ml). El recipiente de reacción se selló herméticamente, y la mezcla se calentó a alrededor de 60 °C durante alrededor de 16 h. La mezcla se concentró, y el residuo se purificó mediante HPLC para obtener el compuesto del título (23 mg, 25 %).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 13.79 (br. s., 1 H), 9.31 (br. s., 1 H), 9.00 (br. s., 1 H), 8.67 (br. s., 1 H), 8.28 (d, 1 H), 7.56 (br. s., 2 H), 7.39 (br. s., 1 H), 7.25 - 7.35 (m, 1 H), 4.08 (quin, 1 H), 3.44 (s, 2 H), 3.21 (s, 3 H), 2.79 - 2.90 (m, 2 H), 2.63 - 2.73 (m, 3 H).

LCMS m/z = 440.1 $[MNa]^+$

Preparación 84

2-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-2H-1,2,3-triazol

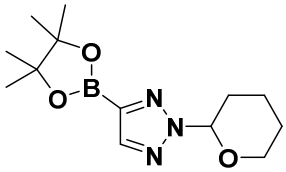


A una mezcla de 1H-1,2,3-triazol (15 g, 220 mmol) en DCM (724 ml), se agregaron DHP (21,9 g, 261 mmol) y PTSA (0,374 g, 2,17 mmol). La mezcla se mantuvo a alrededor de 25 °C durante alrededor de 18 h, después de lo cual se agregó NaOH

(96 mg, 2,39 mmol). La mezcla se agitó a alrededor de 25 °C durante alrededor de 1 h, luego se filtró. El filtrado se concentró, y el residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título como un aceite incoloro (18 g, 54 %).
^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.68 (s, 2 H), 5.74 (dd, 1 H), 4.00 - 4.08 (m, 1 H), 3.69 - 3.81 (m, 1 H), 2.36 - 2.51 (m, 1 H), 2.02 - 2.20 (m, 2 H), 1.61 - 1.81 (m, 3 H).

Preparación 85

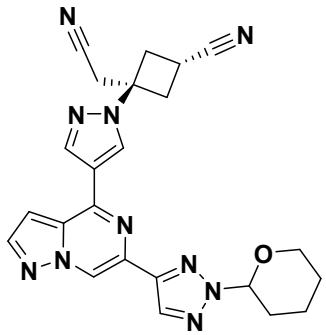
2-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-2H-1,2,3-triazol



A una solución de 4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolano (24 g, 129 mmol) en pentano (200 ml), se agregaron 4,4'-di-ter-butil-2,2'-bipiridina (0,315 g, 1,18 mmol) y dímero de (1,5-ciclooctadien)(metoxi)iridio(I) (234 mg, 0,35 mmol). La solución rápidamente se tornó de color rojo, y se observó la evolución del gas. Después de alrededor de 15 min, se agregó 2-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-2H-1,2,3-triazol (**Preparación 84**, 18 g, 117 mmol). La mezcla se agitó a alrededor de 25 °C durante alrededor de 6 h. La mezcla se concentró, y el residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título como un sólido incoloro (26 g, 79 %).
^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.99 (s, 1 H), 5.81 (dd, 1 H), 4.07 (d, 1 H), 3.67 - 3.78 (m, 1 H), 2.41 - 2.55 (m, 1 H), 2.02 - 2.16 (m, 2 H), 1.60 - 1.80 (m, 3 H), 1.37 (s, 12 H).
LCMS m/z = 113.9 $[MH-C_2H_2N]^+$

Preparación 86

(1r,3r)-3-(cianometil)-3-(4-(6-(2-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-2H-1,2,3-triazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutan-1-carbonitrilo



Una mezcla de (1r,3r)-3-(4-(6-cloropirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-3-(cianometil)ciclobutan-1-carbonitrilo (**Preparación 75**, 300 mg, 0,89 mmol), 2-

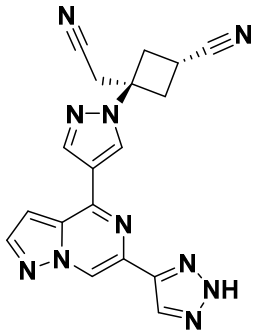
(tetrahidro-2H-piran-2-il)-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-2H-1,2,3-triazol (**Preparación 85**, 248 mg, 0,89 mmol) y K_3PO_4 ac. 2 M (1 ml) en 1,4-dioxano (4 ml) se purgó con argón durante alrededor de 5 min, después de lo cual se agregó XPhos Pd G2 (140 mg, 0,18 mmol). La mezcla se calentó a alrededor de 50 °C durante alrededor de 1 h, luego se enfrió y se diluyó con EtOAc. Las fases se separaron, y la fase acuosa se extrajo dos veces con DCM. Los extractos de EtOAc y DCM combinados se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título como una goma transparente (384 mg, 95 %).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 9.02 (s, 1 H), 8.41 (s, 1 H), 8.35 (s, 1 H), 8.28 (s, 1 H), 8.13 (d, 1 H), 7.00 (d, 1 H), 5.81 (dd, 1 H), 4.06 - 4.12 (m, 1 H), 3.77 - 3.87 (m, 1 H), 3.35 - 3.47 (m, 3 H), 3.30 (s, 2 H), 2.95 - 3.04 (m, 2 H), 2.45 - 2.59 (m, 1 H), 2.12 - 2.24 (m, 2 H), 1.69 - 1.87 (m, 3 H).

LCMS m/z = 455.3 $[MH]^+$

Preparación 87

(1r,3r)-3-(4-(6-(2H-1,2,3-triazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-3-(cianometil)ciclobutan-1-carbonitrilo



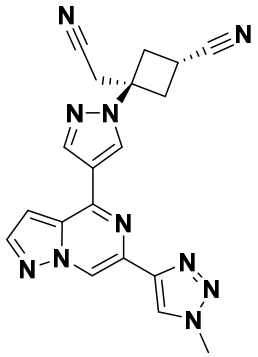
Una suspensión de (1r,3r)-3-(cianometil)-3-(4-(6-(2-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-2H-1,2,3-triazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutan-1-carbonitrilo (**Preparación 86**, 384 mg, 0,84 mmol) en MeOH (5 ml) se trató con PTSA (16,1 mg, 0,084 mmol). La mezcla se calentó a alrededor de 60 °C durante alrededor de 3,5 h. Los sólidos se disolvieron para formar una solución homogénea, después de lo cual se precipitó un sólido blanco. El calentamiento continuó durante alrededor de 1 h más. La mezcla se enfrió hasta alrededor de 0 °C durante alrededor de 30 min y se filtró. El precipitado se lavó con MeOH y se secó al vacío para obtener el compuesto del título como un sólido blanco (204 mg, 65 %).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 9.05 (s, 1 H), 8.97 (s, 1 H), 8.72 (br. s., 1 H), 8.57 (s, 1 H), 8.46 (s, 1 H), 8.30 (s, 1 H), 7.56 (s, 1 H), 3.55 - 3.62 (m, 1 H), 3.53 (s, 2 H), 3.22 - 3.30 (m, 2 H), 2.89 - 3.00 (m, 2 H).

LCMS m/z = 371.3 $[MH]^+$

Ejemplo 33

(1r,3r)-3-(cianometil)-3-(4-(6-(1-metil-1H-1,2,3-triazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutan-1-carbonitrilo



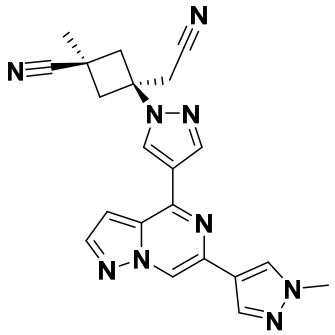
A una mezcla de (1r,3r)-3-(4-(6-(2H-1,2,3-triazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-3-(cianometil)ciclobutan-1-carbonitrilo (**Preparación 87**, 100 mg, 0,27 mmol) y K_2CO_3 (75 mg, 0,54 mmol) en DMF (1 ml), se agregó yodometano (0,034 ml, 0,540 mmol). La mezcla se agitó durante alrededor de 2 h a alrededor de 25 °C. La mezcla se filtró, y la torta de filtro se lavó dos veces con DCM. El filtrado se concentró, y el residuo se purificó mediante cromatografía y luego HPLC para obtener el compuesto del título como un sólido blanco (40 mg, 39 %).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 9.19 (s, 1 H), 8.51 (s, 1 H), 8.33 (s, 1 H), 8.30 (s, 1 H), 8.15 (d, 1 H), 7.03 (s, 1 H), 4.22 (s, 3 H), 3.35 - 3.46 (m, 3 H), 3.30 (s, 2 H), 2.99 (d, 2 H).

LCMS m/z = 385.4 $[MH]^+$

Ejemplo 34

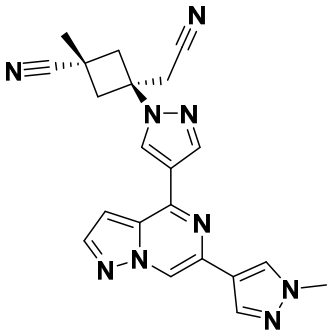
(1s,3s)-3-(cianometil)-1-metil-3-(4-(6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutan-1-carbonitrilo



y

Ejemplo 35

(1r,3r)-3-(cianometil)-1-metil-3-(4-(6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutan-1-carbonitrilo



Se agregó DBU (327 mg, 2,15 mmol) a una solución de 6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-4-(1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazina (**Preparación 53**, 190 mg, 0,72 mmol) y 3-(cianometilen)-1-metilciclobutan-1-carbonitrilo (**Preparación 89**, 142 mg, 1,07 mmol) en MeCN (15 ml), y la mezcla se agitó a alrededor de 50 °C durante alrededor de 4 h. La mezcla se concentró, y el residuo se purificó mediante cromatografía para obtener un residuo que se volvió a purificar mediante TLC para obtener una mezcla de los dos compuestos del título (200 mg, 70 %) como un sólido marrón. La mezcla de isómeros se separó mediante HPLC para obtener (1r,3r)-3-(cianometil)-1-metil-3-(4-(6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutan-1-carbonitrilo como un sólido rosa claro (isómero trans, 24 mg 8 %)

^{1}H NMR (400 MHz, CD_3CN) δ: 8.36 (s, 1 H), 8.28 (s, 1 H), 8.26 - 8.31 (m, 1 H), 8.14 (s, 1 H), 7.86 (s, 1 H), 7.79 (d, 1 H), 7.73 (s, 1 H), 6.87 (d, 1 H), 3.66 (s, 3 H), 3.10 (s, 2 H), 2.80 - 2.92 (m, 4 H), 1.25 (s, 3 H).

LCMS m/z = 398.0 $[MH]^+$ y 420.0 $[MNa]^+$

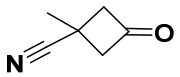
y (1s,3s)-3-(cianometil)-1-metil-3-(4-(6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutan-1-carbonitrilo (isómero cis, 24 mg, 8 %).

^{1}H NMR (400 MHz, CD_3CN) δ: 8.68 (s, 1 H), 8.63 (s, 1 H), 8.44 (s, 1 H), 8.14 (s, 1 H), 8.05 (d, 1 H), 8.00 (s, 1 H), 7.15 (d, 1 H), 3.92 (s, 3 H), 3.47 - 3.55 (m, 2 H), 3.19 (s, 2 H), 2.74 - 2.82 (m, 2 H), 1.63 (s, 3 H).

LCMS m/z = 398.0 $[MH]^+$ y 419.9 $[MNa]^+$

Preparación 88

1-metil-3-oxociclobutan-1-carbonitrilo



Parte 1

A una solución de diisopropilamina (1,30 g, 12,9 mmol) en THF (30 ml), se agregó

n-BuLi 2,5 M (5,15 ml) a alrededor de 0 °C. La solución se agitó durante alrededor de 30 min a alrededor de 0 °C antes de enfriarla a alrededor de -78 °C. Se agregó 3-metilenciclobutan-1-carbonitrilo (1,00 g, 10,74 mmol), y la solución se agitó durante alrededor de 1 h a alrededor de -78 °C. Se agregó yodometano (1,98 g, 14,0 mmol) a la solución a alrededor de -78 °C, luego la mezcla se calentó hasta alrededor de 20 °C y se mantuvo a esta temperatura durante alrededor de 0,5 h. Se agregó NH_4Cl ac. saturado (30 ml), y la mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 30 ml). Los extractos de EtOAc combinados se concentraron para obtener 1-metil-3-metilenciclobutan-1-carbonitrilo como un aceite amarillo pálido (1,1 g, 96 %).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 4.90 - 4.98 (m, 2 H), 3.23 - 3.35 (m, 2 H), 2.64 - 2.75 (m, 2 H), 1.55 (s, 3 H).

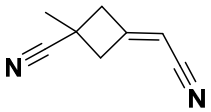
Parte 2

A una mezcla de 1-metil-3-metilenciclobutan-1-carbonitrilo (1,10 g, 10,3 mmol) y $RuCl_3$ hidrato (50,9 mg, 0,23 mmol) en una mezcla de DCM (20 ml), MeCN (20 ml) y agua (40 ml), se agregó $NaIO_4$ (8,78 g, 41,1 mmol) en pequeñas porciones a alrededor de 5 °C. La mezcla luego se agitó a alrededor de 25 °C durante alrededor de 17 h. La fase acuosa se separó y se extrajo con DCM (2 x 50 ml). Los extractos de DCM se combinaron con la fase DCM – MeCN y se secaron (Na_2SO_4), luego se filtraron a través de alrededor de 10 g de gel de sílice. El gel de sílice se lavó con DCM (50 ml). El filtrado se concentró para obtener el compuesto del título como un aceite marrón (0,80 g, 71 %).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 3.71 (m, 2 H), 3.14 (m, 2 H), 1.71 (s, 3 H).

Preparación 89

3-(cianometilen)-1-metilciclobutan-1-carbonitrilo



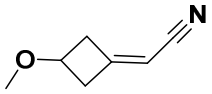
Una mezcla de 1-metil-3-oxociclobutan-1-carbonitrilo (**Preparación 88**, 0,80 g, 7,0 mmol), $(EtO)_2P(O)CH_2CN$ (1,43 g, 8,06 mmol), LiBr (0,955 g, 11,0 mmol) y TEA (1,48 g, 14,7 mmol) en THF (20 ml) se agitó a alrededor de 25 °C durante alrededor de 16 h. Se agregó agua (30 ml), y la mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 50 ml). Los extractos de EtOAc combinados se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título como un aceite incoloro (0,65 g, 70%).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 5.34 (m, 1 H), 3.47 (m, 2 H), 2.98 (m, 2 H), 1.60 (s, 3 H).

GCMS m/z = 131 $[M-H]^+$

Preparación 90

2-(3-metoxiciclobutiliden)acetonitrilo



Parte 1

Se llevaron a cabo doce reacciones idénticas en paralelo de la siguiente manera:

Para cada reacción, un tubo sellado de 100 ml se cargó con metoxieteno (37 g, 637 mmol), DIPEA (9,88 g, 76,4 mmol) y cloruro de acetilo (5 g, 60 mmol) a alrededor de -30 °C. La mezcla luego se calentó a alrededor de 70 °C durante alrededor de 5 h. Las doce reacciones se combinaron y se lavaron con HCl ac. 1 M (2 x 100 ml), $NaHCO_3$ ac. saturado (2 x 100 ml), se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron para obtener una muestra cruda de 3-metoxiciclobutan-1-ona como un aceite negro (27 g, 37 %). Este material era alrededor de 50 % puro según ^{1}H NMR y se usó sin purificación adicional en la Parte 2.

Parte 2

Se llevaron a cabo dos reacciones idénticas en paralelo.

A una mezcla de LiBr (13,4 g, 154 mmol) y TEA (39 ml, 280 mmol) en THF (200 ml), se agregó $(EtO)_2P(O)CH_2CN$ (26 g, 147 mmol) a alrededor de 0 °C. La agitación continuó a alrededor de 25 °C durante alrededor de 2 h. A esta mezcla se agregó una solución de la 3-metoxiciclobutan-1-ona cruda preparada en la Parte 1 (13 g, alrededor de 70 mmol) en THF (40 ml) a alrededor de 0 °C. La mezcla luego se agitó a alrededor de 25 °C durante alrededor de 16 h. Las dos mezclas de reacción se combinaron y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título como un aceite amarillo claro (9,2 g, 56%).

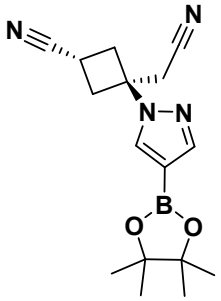
^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 5.25 (m, 1 H), 4.05 (m, 1 H), 3.30 (s, 3 H), 3.25 (m,1 H), 3.10 (m, 1 H), 2.85 (m, 2 H).

LCMS m/z = 124.08 $[MH]^+$

Preparación 91

(1r,3r)-3-(cianometil)-3-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutan-1-carbonitrilo

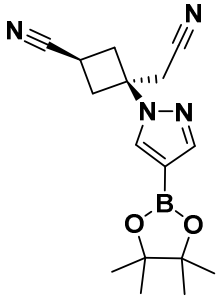
(isómero trans)



y

(1s,3s)-3-(cianometil)-3-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutan-1-carbonitrilo

(isómero cis)



A una solución de 4-(4,4,5,5,-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol (1,3 kg, 6,67 mol) en MeCN (43 l), se agregaron 3-cianometilen)ciclobutan-1-carbonitrilo (**Preparación 27**, 953 g, 8 mol) y DBU (3,06 kg, 20,1 mol) a alrededor de 20 °C. La agitación continuó a alrededor de 20 °C durante alrededor de 16 h. La mezcla se vertió en KH_2PO4 ac. 1 M (10 l) y se extrajo con EtOAc (5 x 5 l). Los extractos de EtOAc combinados se concentraron, y el residuo se purificó mediante cromatografía para obtener (1r,3r)-3-(cianometil)-3-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutan-1-carbonitrilo como un sólido blanco (isómero trans, 610 g, 30 %)

Punto de fusión 137 – 140 °C

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.90 (s, 1 H), 7.88 (s, 1 H), 3.21 - 3.28 (m, 3 H), 3.19 (s, 2 H), 2.86 - 2.94 (m, 2 H), 1.33 (s, 12 H).

^{13}C NMR (101 MHz, CD_3OD) δ: 147.54, 136.49, 122.49, 117.11, 84.96, 61.93, 37.52, 30.47, 25.28, 25.18, 17.21.

LCMS m/z = 313.1 $[MH]^+$

y (1s,3s)-3-(cianometil)-3-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutan-1-carbonitrilo como un sólido blancuzco (isómero cis, 250 g, 12 %).

Punto de fusión 95 – 98 °C

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.86 (s, 2 H), 3.24 - 3.31 (m, 1 H), 3.13 - 3.21 (m, 2 H),

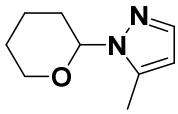
3.07 (s, 2 H), 2.96 - 3.04 (m, 2 H), 1.34 (s, 12 H).

^{13}C NMR (101 MHz, CD_3OD) δ: 147.43, 135.94, 121.94, 117.37, 84.98, 75.96, 60.10, 37.95, 28.42, 25.29, 16.16.

LCMS m/z = 313.1 $[MH]^+$

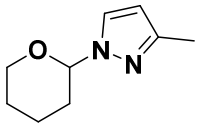
Preparación 92

5-metil-1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazol



y

3-metil-1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazol



Una mezcla de 3-metilpirazol (1,00 g, 12,18 mmol), DHP (1,54 g, 18,3 mmol) y TFA (0,007 ml, 0,089 mmol) se calentó a alrededor de 85 °C durante alrededor de 4 h. La mezcla se enfrió hasta alrededor de 20 °C, y se agregó NaH (60 % en aceite, 20 mg, 0,5 mmol). La agitación a alrededor de 20 °C continuó durante alrededor de 18 h. La mezcla se concentró, el residuo se purificó mediante cromatografía para obtener 5-metil-1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazol como un aceite (400 mg, 20 %)

^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.45 (d, 1 H), 6.05 (d, 1 H), 5.24 - 5.30 (m, 1 H), 4.00 - 4.08 (m, 1 H), 3.61 - 3.70 (m, 1 H), 2.41 - 2.55 (m, 1 H), 2.35 (s, 3 H), 2.08 - 2.18 (m, 1 H), 1.93 - 2.02 (m, 1 H), 1.65 - 1.77 (m, 2 H), 1.55 - 1.64 (m, 1 H).

GCMS m/z = 166.1 $[M]^+$

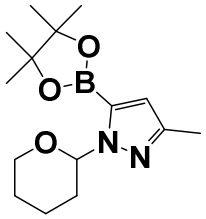
y 3-metil-1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazol como un aceite (352 mg, 15 %).

^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.48 (d, 1 H), 6.08 (d, 1 H), 5.29 (dd, 1 H), 4.08 (dt, 1 H), 3.64 - 3.74 (m, 1 H), 2.30 (s, 3 H), 2.07 - 2.18 (m, 1 H), 1.98 - 2.07 (m, 2 H), 1.64 - 1.77 (m, 3 H).

GCMS m/z = 166.1 $[M]^+$

Preparación 93

3-metil-1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol



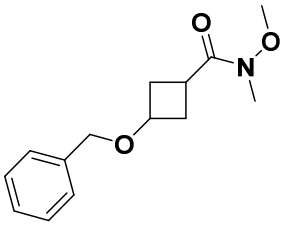
Una solución 2,5 M de n-BuLi en hexano (0,44 ml, 1,10 mmol) se agregó a una solución de 3-metil-1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazol (**Preparación 92**, 200 mg, 1,10 mmol) en THF (2 ml) a alrededor de -70 °C. La mezcla se agitó a esta temperatura durante alrededor de 10 min antes de agregar 2-isopropoxi-4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolano (214 mg, 1,15 mmol). La mezcla se mantuvo a alrededor de -70 °C durante alrededor de 1 h más, luego se calentó hasta alrededor de 20 °C y se concentró para obtener el compuesto del título mezclado con alrededor de 65 % de 3-metil-1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazol sin reaccionar. Esta mezcla se usó sin purificación adicional.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 6.51 (s, 1 H), 5.76 (dd, 1 H), 4.01 - 4.12 (m, 1 H), 3.59 - 3.74 (m, 1 H), 2.37 - 2.51 (m, 2 H), 2.29 (s, 3 H), 1.97 - 2.18 (m, 1 H), 1.62 - 1.76 (m, 2 H), 1.47 - 1.62 (m, 1 H), 1.33 (s, 12 H).

GMS m/z = 292.2 $[M]^+$

Preparación 94

3-(benciloxi)-N-metoxi-N-metilciclobutancarboxamida



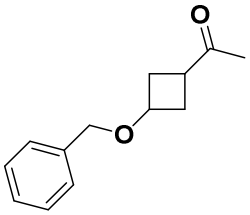
A una solución de ácido 3-(benciloxi)ciclobutancarboxílico (324 g, 1,57 mol) en DCM (1,5 l), se agregó CDI (280 g, 1,73 mol) en porciones. La mezcla se calentó a reflujo durante alrededor de 2 h, después de lo cual se agregaron N,O-dimetilhidroxilamina clorhidrato (183,7 g, 1,88 mol) y TEA (261 ml, 1,88 mol). La mezcla se calentó a reflujo durante alrededor de 3 h más, luego se agitó a alrededor de 25 °C durante alrededor de 16 h. El DCM se lavó con K_2CO_3 ac. saturado, se secó (K_2CO_3) y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título (298 g, 76%).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 7.24–7.38 (m, 5 H), 4.37 (s, 2 H), 4.06 - 4.15 (m, 1 H), 3.61 (s, 3 H), 3.09 (s, 3 H), 2.96 (s, 1 H), 2.30 - 2.40 (m, 2 H), 2.09 - 2.22 (m, 1 H), 1.95

- 2.07 (m, 1 H).

Preparación 95

1-[3-(benciloxi)ciclobutil]etanona

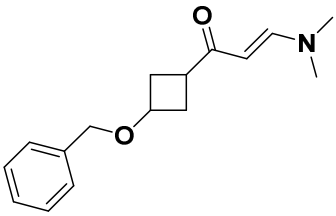


A una solución de 3-(benciloxi)-N-metoxi-N-metilciclobutancarboxamida (**Preparación 94**, 298 g, 1,2 mol) en THF (1,5 l), se agregó por goteo una solución de bromuro de metilmagnesio (1,3 mol) a alrededor de –20 °C. Una vez que la adición de bromuro de metilmagnesio se completó, el baño de enfriamiento se retiró, y la mezcla se calentó hasta alrededor de 25 °C. Luego se agregó HCl ac. 2 M (2,5 l), y la mezcla se extrajo con Et_2O (1 l + 500 ml). Los extractos de Et_2O combinados se lavaron con agua, se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título (194 g, 79%).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 7.24 - 7.38 (m, 5 H), 4.35 (s, 2 H), 3.90 - 3.99 (m, 0.5 H), 3.16 - 3.24 (m, 0.5 H), 2.75 - 2.87 (m, 1 H), 2.31 - 2.40 (m, 2 H), 2.06 - 2.15 (m, 1 H), 2.04 (s, 1.5 H), 1.99 (s, 1.5 H), 1.87 - 1.97 (m, 1 H).

Preparación 96

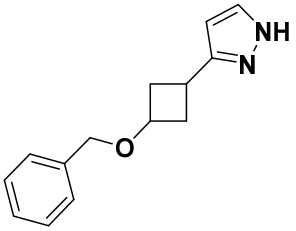
1-[3-(benciloxi)ciclobutil]-3-(dimetilamino)prop-2-en-1-ona



A una solución de 1-[3-(benciloxi)ciclobutil]etanona (**Preparación 95**, 194 g, 0,95 mol) en DMF (500 ml), se agregó dimetilformamida dimetil acetal (285 g, 2,4 mol). La mezcla se calentó a alrededor de 110 °C durante alrededor de 12 h. La mezcla se concentró para obtener el compuesto del título (258 g), que se usó sin purificación ni caracterización adicional.

Preparación 97

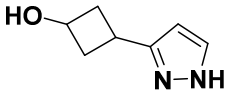
5-[3-(benciloxi)ciclobutil]-1*H*-pirazol



A una solución de 1-[3-(benciloxi)ciclobutil]-3-(dimetilamino)prop-2-en-1-ona (**Preparación 96**, 110 g, 0,42 mol) en MeOH (500 ml), se agregó hidrazina hidrato (30 g, 0,6 mol). La mezcla se calentó a reflujo durante alrededor de 12 h, luego se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título (79 g, 82 %), que se usó sin purificación ni caracterización adicional.

Preparación 98

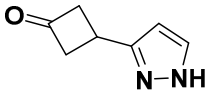
3-(1H-pirazol-5-il)ciclobutanol



A una solución de 5-[3-(benciloxi)ciclobutil]-1H-pirazol (**Preparación 97**, 79 g, 0,35 mol) en metanol (800 ml) en un matraz de hidrogenación de 2 l, se agregó paladio sobre carbón (10 % de Pd, 16 g). La mezcla se presurizó en hidrógeno (30 psi), y la mezcla se agitó a alrededor de 60°C durante alrededor de 12 h. Se agregó más paladio sobre carbón (10 % de Pd, 16 g), y la hidrogenación continuó durante alrededor de 10 h. La mezcla se filtró, y el filtrado se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título (46 g, 96%), que se usó sin purificación ni caracterización adicional.

Preparación 99

3-(1H-pirazol-5-il)ciclobutan-1-ona



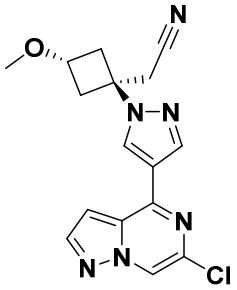
A una solución de cloruro de oxalilo (7,8 ml, 0,09 mol) en DCM (50 ml) a alrededor de -78 °C, se agregó por goteo una solución de DMSO (12,7 ml, 0,18 mol) en DCM (50 ml). La mezcla se agitó durante alrededor de 30 min, luego se agregó por goteo 3-(1H-pirazol-5-il)ciclobutanol (**Preparación 98**, 13,7 g, 0,09 mol) a esta temperatura. La mezcla resultante se mantuvo durante alrededor de 30 min, después de lo cual se agregó por goteo TEA (25 ml, 0,18 mol). El baño de enfriamiento se retiró, y la mezcla se calentó hasta alrededor de 25 °C y se mantuvo a esta temperatura durante alrededor de 3 h. Luego se agregó una solución acuosa de K_2CO_3 (100 ml). El DCM se separó, y

la fase acuosa se extrajo con DCM. Los extractos de DCM combinados se lavaron con agua, se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título (7,4 g, 55 %) como un sólido blanco.
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 12.56 (s, 1 H), 7.61 (s, 1 H), 6.21 (d, 1 H), 3.46 - 3.68 (m, 1 H), 3.37 - 3.46 (m, 2 H), 3.15 - 3.25 (m, 2 H).
LCMS m/z = 137.1 $[MH]^+$

Preparación 100

2-((1r,3s)-1-(4-(6-cloropirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-3-metoxiciclobutil)acetonitrilo

(isómero trans)



Parte 1

A una solución de 2-((1r,3s)-1-(4-bromo-1H-pirazol-1-il)-3-metoxiciclobutil)acetonitrilo (**Preparación 37**, isómero trans, 3399 mg, 12,58 mmol) en 1,4-dioxano (33 ml), se agregaron bis(pinacolato)diboro (3510 mg, 13,8 mmol) y KOAc (3700 mg, 37,7 mmol). La mezcla se purgó con argón durante alrededor de 5 min, después de lo cual se agregó XPhos Pd G2 (1980 mg, 2,52 mmol). La mezcla se calentó a alrededor de 65 °C durante alrededor de 4 h. La mezcla enfriada se concentró, y el residuo se purificó mediante cromatografía. El producto se agitó con EtOAc (10 ml) a alrededor de 25 °C, luego se agregó heptano (40 ml), y se permitió que la cristalización se produzca durante alrededor de 30 min. El precipitado se filtró y se secó para obtener 2-((1r,3s)-3-metoxi-1-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutil)acetonitrilo como un sólido blanco (1950 mg, 49 %).
^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.91 (s, 1 H), 7.87 (s, 1 H), 3.98 (tt, 1 H), 3.29 (s, 3 H), 3.17 (s, 2 H), 2.97 - 3.07 (m, 2 H), 2.44 - 2.53 (m, 2 H), 1.33 (s, 12 H).
LCMS m/z = 318.0 $[MH]^+$

Parte 2

Una solución de 2-((1r,3s)-3-metoxi-1-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutil)acetonitrilo (**Parte 1**, 1950 mg, 6,15 mmol), 4,6-dicloropirazolo[1,5-a]pirazina (**Preparación 4**, 1160 mg, 6,15 mmol) y K_3PO_4 ac. 2 M

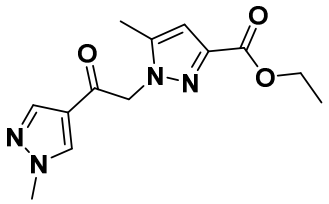
(9,22 ml) en 1,4-dioxano (25 ml) se purgó con argón durante alrededor de 5 min, después de lo cual se agregó bis(tri-t-butilfosfina)paladio(0) (157 mg, 0,31 mmol). La mezcla se agitó a alrededor de 25 °C durante alrededor de 2 h. La mezcla enfriada se diluyó con EtOAc, y las fases se separaron. La fase acuosa se extrajo dos veces con DCM. Los extractos de EtOAc y DCM combinados se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron. El residuo se disolvió en DCM (20 ml) y se calentó a alrededor de 40 °C hasta que todo se disolvió, luego se agregó heptano (10 ml), y la cristalización se produjo durante alrededor de 30 min. El precipitado se filtró y se secó para obtener el compuesto del título como un sólido blancuzco (1120 mg, 53 %). El filtrado se concentró, y el residuo se purificó mediante cromatografía para obtener más compuesto del título (640 mg, 30 %).

^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ: 8.39 (d, 1 H), 8.38 (s, 1 H), 8.28 (s, 1 H), 8.08 (d, 1 H), 7.03 (dd, 1 H), 4.03 - 4.10 (m, 1 H), 3.34 (s, 3 H), 3.25 (s, 2 H), 3.08 - 3.16 (m, 2 H), 2.53 - 2.60 (m, 2 H).

LCMS m/z = 343.3 $[MH]^+$ (isótopo ^{35}Cl)

Preparación 101

Etil 5-metil-1-(2-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-2-oxoetil)-1H-pirazol-3-carboxilato



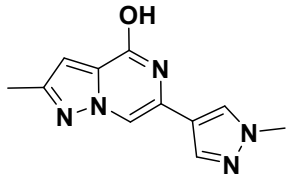
Etil 3-metil-1H-pirazol-5-carboxilato (92 mg, 0,6 mmol), 2-bromo-1-(1-metil-1H-pirazol-4-il)etan-1-ona (**Preparación 6,** 134 mg, 0,66 mmol) y K_2CO_3 (104 mg, 0,75 mmol) se combinaron en MeCN (2 ml), y la suspensión se agitó a alrededor de 40 °C durante alrededor de 16 h. Los sólidos se filtraron, y el filtrado se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título como un aceite amarillo (125 mg, 5,5 %).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.86 (s, 2 H), 6.73 (s, 1 H), 5.65 (s, 2 H), 4.26 (q, 2 H), 3.95 (s, 3 H), 2.32 (s, 3 H), 1.31 (t, 3 H).

LCMS m/z = 277.1 $[MH]^+$

Preparación 102

2-metil-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-ol



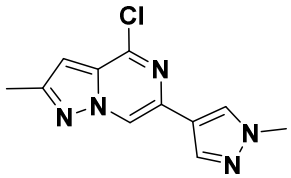
A una solución de etil 5-metil-1-(2-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-2-oxoetil)-1H-pirazol-3-carboxilato (**Preparación 101,** 125 mg, 0,45 mmol) en EtOH (5 ml), se agregó NH_4OAc (105 mg, 1,06 mmol). La mezcla se calentó en irradiación de microondas a alrededor de 105 °C durante alrededor de 4 h. La mezcla se concentró, y el residuo se disolvió en EtOH y se volvió a concentrar para obtener el compuesto del título (110 mg, 85 %).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 8.25 (s, 1 H), 8.01 (s, 1 H), 7.97 (s, 1 H), 6.76 (s, 1 H), 3.87 (s, 3 H), 2.34 (s, 3 H).

LCMS m/z = 230.0 $[MH]^+$

Preparación 103

4-cloro-2-metil-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazina



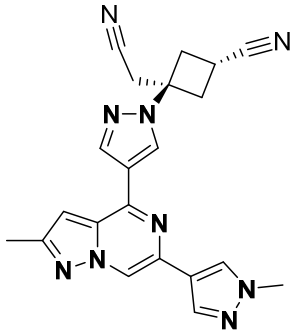
2-metil-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-ol (**Preparación 102**) se suspendió en $POCl_3$ y se calentó a alrededor de 120 °C durante alrededor de 6 h. La solución se concentró para obtener una muestra impura del compuesto del título que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

LCMS m/z = 248.0 $[MH]^+$ (isótopo ^{35}Cl)

Ejemplo 36

(1r,3r)-3-(cianometil)-3-(4-(2-metil-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutan-1-carbonitrilo

(isómero trans)

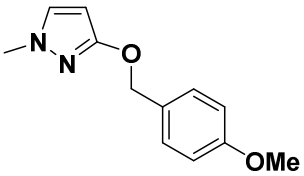


Una mezcla de 4-cloro-2-metil-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazina

cruda (**Preparación 103,** 100 mg, 0,40 mmol), (1r,3r)-3-(cianometil)-3-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutan-1-carbonitrilo (**Preparación 91,** 132 mg, 0,42 mmol), Pd(dppf)Cl_2 DCM (16,5 mg, 0,02 mmol) y K_2CO_3 (167 mg, 1,21 mmol) se combinaron en una mezcla de 1,4-dioxano (2,5 ml) y agua (0,5 ml). La mezcla se purgó con nitrógeno durante alrededor de 5 min, luego se calentó a alrededor de 90 °C durante alrededor de 3 h. La mezcla se concentró, y el residuo se purificó mediante cromatografía y HPLC para obtener el compuesto del título (5,6 mg, 3 % en dos etapas).
^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 8.37 (s, 1 H), 8.33 (s, 1 H), 8.30 (s, 1 H), 7.92 (s, 1 H), 7.90 (s, 1 H), 6.68 (s, 1 H), 3.99 (s, 3 H), 3.32 - 3.42 (m, 3 H), 3.27 (s, 2 H), 2.93 - 3.02 (m, 2 H), 2.56 (s, 3 H).
LCMS m/z = 398.0 $[MH]^+$

Preparación 104

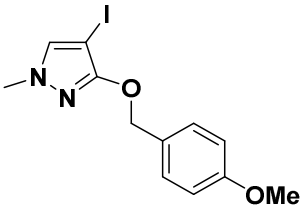
3-((4-metoxibencil)oxi)-1-metil-1H-pirazol



A un matraz de fondo redondo de 100 ml se agregaron 1-metil-1H-pirazol-3-ol (1,40 g, 14,3 mmol), DMF (30 ml) y K_2CO_3 (3,94 g, 28,5 mmol). Por último, se agregó cloruro de 4-metoxibencilo (2,32 ml, 17,1 mmol) a la mezcla. La mezcla se calentó a alrededor de 60 °C durante alrededor de 8 horas. La mezcla luego se diluyó con agua (80 ml) y se extrajo con EtOAc (60 ml x 3). Los extractos de EtOAc combinados se lavaron con salmuera (60 ml x 2), se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título como un aceite incoloro (2,6 g, 83%).
^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.38 (d, 2 H), 7.13 (d, 1 H), 6.91 (d, 2 H), 5.64 (d, 1 H), 5.11 (s, 2 H), 3.82 (s, 3 H), 3.76 (s, 3 H).
LCMS m/z = 218.9 $[MH]^+$

Preparación 105

4-iodo-3-((4-metoxibencil)oxi)-1-metil-1H-pirazol

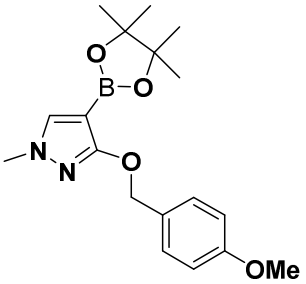


A un matraz de fondo redondo de 100 ml, se agregaron 3-((4-metoxibencil)oxi)-1-metil-1H-pirazol (**Preparación 104**, 1,0 g, 4,58 mmol) y MeCN (20 ml), después de lo cual se agregaron nitrato de amonio cérico (1,51 g, 2,75 mmol) y yodo (698 mg, 2,75 mmol) a la mezcla. La mezcla marrón se agitó a alrededor de 20 °C durante alrededor de 1 h. La mezcla se inactivó con 5 % de bisulfito de sodio acuoso (50 ml) y se extrajo con EtOAc (40 ml x 3). Los extractos de EtOAc combinados se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título como un aceite verde
(800 mg, 51%).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.40 (d, 2 H), 7.19 (s, 1 H), 6.91 (d, 2 H), 5.18 (s, 2 H), 3.82 (s, 3 H), 3.77 (s, 3 H).

Preparación 106

3-((4-metoxibencil)oxi)-1-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol



A un matraz de fondo redondo de 100 ml se agregaron 4-iodo-3-((4-metoxibencil)oxi)-1-metil-1H-pirazol (**Preparación 105**, 800 mg, 2,32 mmol) y THF (16 ml), luego se agregó por goteo cloruro de isopropilmagnesio (1,3 M en THF, 2,15 ml, 2,79 mmol) a la mezcla a alrededor de -10 °C. La mezcla se agitó a una temperatura de alrededor de -18 °C a 10 °C durante alrededor de 45 min. 2-isopropoxi-4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolano (649 mg, 3,49 mmol) se agregó a la mezcla a alrededor de -10 °C, y la mezcla se calentó hasta alrededor de 15 °C durante alrededor de 1,5 h. Se agregó más cloruro de isopropilmagnesio (1,3 M en THF, 0,72 ml, 0,93 mmol) y 2-isopropoxi-4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolano (216 mg, 1,16 mmol) a la mezcla a alrededor de -15 °C. La mezcla se calentó hasta alrededor de 15 °C durante alrededor de 1 h. La mezcla se diluyó con EtOAc (40 ml) y se lavó con NH_4Cl acuoso saturado (30 ml), salmuera (30 ml), se secó (Na_2SO_4) y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título como un sólido blanco (600 mg, 75 %).

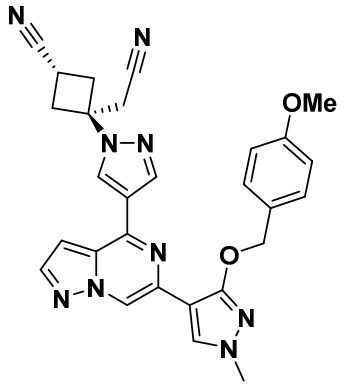
^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.40 - 7.45 (m, 3 H), 6.88 (d, 2 H), 5.24 (s, 2 H), 3.81 (s, 3

H), 3.73 (s, 3 H), 1.31 (s, 12 H).

LCMS m/z = 345.1 $[MH]^+$

Preparación 107

(1r,3r)-3-(cianometil)-3-(4-(6-(3-((4-metoxibencil)oxi)-1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutan-1-carbonitrilo



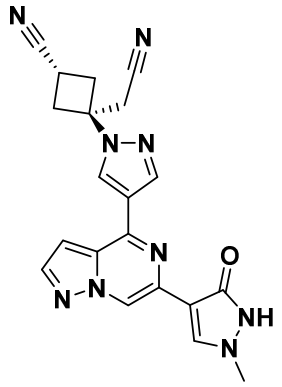
A un matraz de fondo redondo de 25 ml se agregaron (1r,3r)-3-(4-(6-cloropirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-3-(cianometil)ciclobutan-1-carbonitrilo (**Preparación 75**, 300 mg, 0,88 mmol), 3-((4-metoxibencil)oxi)-1-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol (**Preparación 106**, 367 mg, 1,07 mmol), dioxano (16 ml), XPhos Pd G2 (140 mg, 0,178 mmol) y K_3PO_4 ac. 2 M (3,55 ml, 7,11 mmol). La mezcla se colocó en nitrógeno, luego se calentó a alrededor de 60 °C durante alrededor de 4 h. La mezcla se diluyó con agua (70 ml) y se extrajo con EtOAc (50 ml x 3). Los extractos de EtOAc combinados se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto del título como un sólido amarillo (450 mg, 98%).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 8.92 (s, 1 H), 8.57 (s, 1 H), 8.52 (s, 1 H), 8.31 (s, 1 H), 8.16 (d, 1 H), 7.50 (d, 2 H), 7.45 (s, 1 H), 7.00 (d, 2 H), 5.29 (s, 2 H), 3.95 (s, 3 H), 3.82 (s, 3 H), 3.55 - 3.59 (m, 1 H), 3.52 (s, 2 H), 3.25 - 3.32 (m, 2 H), 2.94 (dd, 2 H).

LCMS m/z = 542.1 $[MNa]^+$

Ejemplo 37

(1r,3r)-3-(cianometil)-3-(4-(6-(1-metil-3-oxo-2,3-dihidro-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutan-1-carbonitrilo (isómero trans)



(1r,3r)-3-(cianometil)-3-(4-(6-(3-((4-metoxibencil)oxi)-1-metil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-1H-pirazol-1-il)ciclobutan-1-carbonitrilo (**Preparación 107**, 450 mg, 0,86 mmol) y TFA (13 ml) se agitaron a alrededor de 10 °C durante alrededor de 4 h. La mezcla se concentró, y el residuo se diluyó con DCM (40 ml) y MeOH (40 ml), y se neutralizó con NaHCO3 sólido. La mezcla se filtró. El filtrado se concentró, y el residuo se purificó mediante HPLC para obtener el compuesto del título como un sólido amarillo (54 mg, 16 %).

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ: 10.76 (br. s., 1 H), 8.92 (s, 1 H), 8.71 (s, 1 H), 8.51 (s, 1 H), 8.18 (d, 1 H), 8.16 (s, 1 H), 7.45 (d, 1 H), 3.73 (s, 3 H), 3.55 - 3.62 (m, 1 H), 3.53 (s, 2 H), 3.25 - 3.33 (m, 2 H), 2.90 - 2.99 (m, 2 H).

LCMS m/z = 400.1 $[MH]^+$

Evaluación biológica

Los compuestos de la invención se evaluaron mediante métodos *in vitro* para determinar su respectiva capacidad para inhibir las quinasas JAK (TYK2, JAK1, JAK2, JAK3).

Formato del ensayo

La actividad inhibidora de JAK humana se determinó usando un ensayo de microfluidos para controlar la fosforilación de un péptido sintético mediante el dominio de quinasa humana recombinante de cada uno de los cuatro miembros de la familia de JAK, JAK1, JAK2, JAK3 y TYK2. Las mezclas de reacción contenían 1 μM de un péptido sintético etiquetado de manera fluorescente, una concentración menor de la K_m aparente y 1 mM de ATP. Cada condición del ensayo se optimizó para la concentración enzimática y el tiempo de incubación a temperatura ambiente para obtener una tasa de conversión de 20 % a 30 % de producto de péptido fosforilado. Las reacciones se detuvieron mediante la adición de amortiguador de parada que contenía EDTA. Mediante el uso de la tecnología de cambio en la movilidad LabChip 3000 (Caliper Life Science), se tomaron muestras de cada reacción del ensayo para determinar el nivel de

fosforilación. Esta tecnología es en función de la separación, lo que permite la detección directa de sustratos y productos etiquetados de manera fluorescente. Las separaciones se controlan mediante una combinación de presión al vacío y resistencia del campo eléctrico optimizadas para cada sustrato de péptido.

Protocolo de ensayo

Ensayo enzimático JAK Caliper en 1 mM de ATP

Los compuestos se agregaron a una placa de 384 cavidades. Las mezclas de reacción contenían 10 mM de HEPES, pH 7,4, 10 mM de $MgCl_2$, 0,01 % de BSA, 0,0005 % de Tween 20, 1 mM de ATP y 1 μM de sustrato de péptido. Los ensayos de JAK1 y TYK2 contenían 1 μM de péptido IRStide (5FAM-KKSRGDYMTMQID), y los ensayos de JAK2 y JAK3 contenían 1 μM de péptido JAKtide (FITC-KGGEEEEYFELVKK). Los ensayos se iniciaron mediante la adición de 20 nM de JAK1, 1 nM de JAK2, 1 nM de JAK o 1 nM de enzima TYK2 y se incubaron a temperatura ambiente durante tres horas para JAK1, 60 minutos para JAK2, 75 minutos para JAK3 o 135 minutos para TYK2. Las concentraciones de enzima y los tiempos de incubación se optimizaron para cada nueva preparación de enzimas y se modificaron levemente con el tiempo para garantizar una fosforilación de 20 % a 30 %. Los ensayos se detuvieron con 15 μl de 180 mM de HEPES, pH 7,4, 20 mM de EDTA y 0,2 % de reactivo de recubrimiento 3. Las placas de ensayo se colocaron en un instrumento Caliper Life Science LC3000, y se extrajo una muestra de cada cavidad usando las condiciones de separación adecuadas para medir el péptido no fosforilado y fosforilado.

Análisis de datos

Los datos se recolectaron usando el *software* HTS Well Analyzer de Caliper Life Sciences. La producción de datos para el análisis de datos es el porcentaje de producto convertido calculado según la altura del pico (Ecuación 1).

Ecuación 1: % de producto convertido = 100*((producto)/(producto + sustrato))

El porcentaje de efecto en cada concentración de compuesto se calculó en función de la cavidad de control positivo y negativo contenida dentro de cada placa de ensayo (Ecuación 2). Las cavidades de control positivo contenían una concentración de saturación de un compuesto de control que produjo un nivel de fosforilación comparable con el anterior (es decir, JAK1, JAK2, JAK3 o TYK2 completamente inhibidas). Las cavidades de control negativo solo contenían DMSO (en la misma concentración que las cavidades de compuesto) que se usó para establecer la actividad inicial en el ensayo (es decir, JAK1, JAK2, JAK3 o TYK2 no inhibidas).

Ecuación 2: % de efecto = 100*((cavidad de muestra – control negativo)/(control

positivo-control negativo))

El porcentaje de efecto se representó en un gráfico contra la concentración del compuesto. Una curva sigmoidea libre se ajustó usando un modelo logístico de 4 parámetros, y se determinó la concentración de compuesto necesaria para 50 % de inhibición (IC_{50}) (Ecuación 3).

Ecuación 3: $y = ((max - min)/(1 + ((x/IC_{50})^s))) + min$

En donde max es la asíntota máxima (inhibición completa), min es la asíntota mínima (sin inhibición), y s es el factor de la pendiente. Los valores de IC_{50} se informan en nM para cada compuesto:

Tabla I. Datos de JAK Caliper

Ejemplo N.°	IC50 de TYK2 (nM)	IC50 de JAK1 (nM)	IC50 de JAK2 (nM)	IC50 de JAK3 (nM)
1	18	291	40	>9788
2	62	1057	299	>10000
3	64	2292	487	>10000
4	55	1338	141	>10000
5	35	1917	472	>10000
6	21	5720	500	>10000
7	7	250	37	6682
8	11	265	42	>9282
9	8	185	49	>10000
10	580	5709	1601	>10000
11	8	273	38	>6170
12	24	764	159	>10000
13	149	3228	487	>10000
14	81	1061	367	>10000
15	22	1495	228	>9121
16	16	664	99	10000
17	35	1728	205	10000
18	47	1079	206	10000
19	6	21	8	1051
20	16	383	74	>10000
21	34	1288	109	>10000
22	30	2544	127	>10000
23	9	431	26	9410
24	25	3550	432	>10000
25	23	319	99	>10000
26	21	713	158	>10000
27	24	737	171	>10000
28	27	1362	249	>10000
29	352	3932	3041	>10000
30	7	174	71	>10000
31	38	>9857	324	>10000
32	17	2254	339	>10000
33	52	8717	444	>10000

34	11	96	19	3263
35	136	1915	268	>10000
36	1605	3521	755	>10000
37	32	3489	166	>10000

Los compuestos seleccionados se evaluaron para determinar su capacidad para inhibir la señalización de IL-12 en un ensayo de citometría de flujo en sangre humana. Señales de IL-12 a través de TYK2 y JAK2.

Ensayo de fosforilación de STAT4 inducida por IL-12 en sangre humana

Los artículos de prueba se prepararon como reservas de 30 mM en DMSO. Se creó una serie de dilución de 2,5 de 11 puntos en DMSO con una concentración máxima de 10 mM. Se realizó una dilución adicional mediante la adición de 4 µl de las soluciones de los artículos de prueba anteriores en 96 µl de PBS con una concentración máxima de 400 µM. La sangre humana se recolectó de donantes saludables mediante punción venosa en tubos de recolección Vacutainer que contenían heparina de sodio (Catálogo N.° 366480; Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ). La sangre se calentó hasta 37 °C antes del uso. La sangre humana se dividió en alícuotas (90 ml/cavidad) en placas de fondo en V de 96 cavidades profundas con compuestos a 11 concentraciones diferentes (0,2 % de DMSO final) a 37 °C durante 60 minutos. A continuación, se expuso a IL-12 (5 ml/cavidad; final, 5 ng/ml) durante 15 minutos. Las muestras se trataron con amortiguador tibio Lyse/Fix 1X (700 ml/cavidad) para detener la activación y se volvieron a incubar a 37 °C durante 20 minutos para lisar los eritrocitos. Las placas se centrifugaron a 300 x g durante 5 minutos, el sobrenadante se aspiró, y las células se lavaron con 800 ml por cavidad de amortiguador de tinción (PBS que contenía 0,5 % de suero bovino fetal y 0,01 % de azida de sodio). Los pelets celulares lavados se volvieron a suspender con 350 ml/cavidad de 90 % de metanol previamente enfriado, y se incubaron a 4 °C durante 30 minutos. Las placas se centrifugaron a 300 x g durante 5 minutos, el sobrenadante que contenía 90 % de metanol se aspiró, y las células se lavaron con 800 ml/cavidad de amortiguador de tinción. Los pelets celulares se volvieron a suspender en amortiguador de tinción que contenía anti-pSTAT4-AlexaFluor647 (dilución de 1 a 150, 150 ml/cavidad), y se incubaron a temperatura ambiente en la oscuridad durante la noche.

Las muestras se transfirieron a placas con fondo en U de 96 cavidades, y se realizó el análisis de citometría de flujo en un FACSCalibur o LSRFortessa equipado con un cargador de placas HTS (BD Biosciences). La población de linfocitos se delimitó para el análisis en histograma de pSTAT4. La fluorescencia de fondo se definió usando

células no estimuladas, y se estableció un límite en la base del pico para incluir ~0,5 % de la población delimitada. El análisis estadístico de histograma se realizó usando *software* CellQuestÔ Pro versión 5.2.1 (BD Biosciences) o FACSDiva versión 6.2 (BD Biosciences). La unidad de fluorescencia relativa (RFU), que mide el nivel de STAT4 fosforilado, se calculó multiplicando el porcentaje de población positiva y su fluorescencia media. Los datos de 11 concentraciones de compuesto (una vez en cada concentración) se normalizaron como porcentaje de control en función de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de control} = 100 \times (A - B)/(C - B)$$

en donde A es RFU de cavidades que contienen compuesto y IL-12, B es RFU de cavidades sin IL-12 y compuesto (fluorescencia mínima), y C es RFU de cavidades que solo contienen IL-12 (fluorescencia máxima). Las curvas de inhibición y los valores de IC_{50} se determinaron usando *software* Prism versión 5 (GraphPad, La Jolla, CA).

Tabla II. Datos de IL-12 en sangre humana (HWB).

Número de ejemplo	IC_{50} de IL-12 en HWB (nM)
1	162
3	203
7	41
19	28
20	50
23	34
25	59
27	86
30	46
32	130