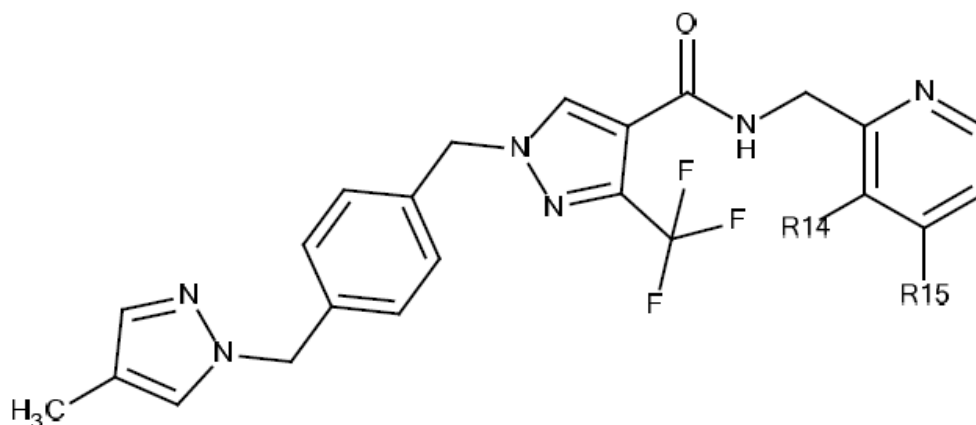


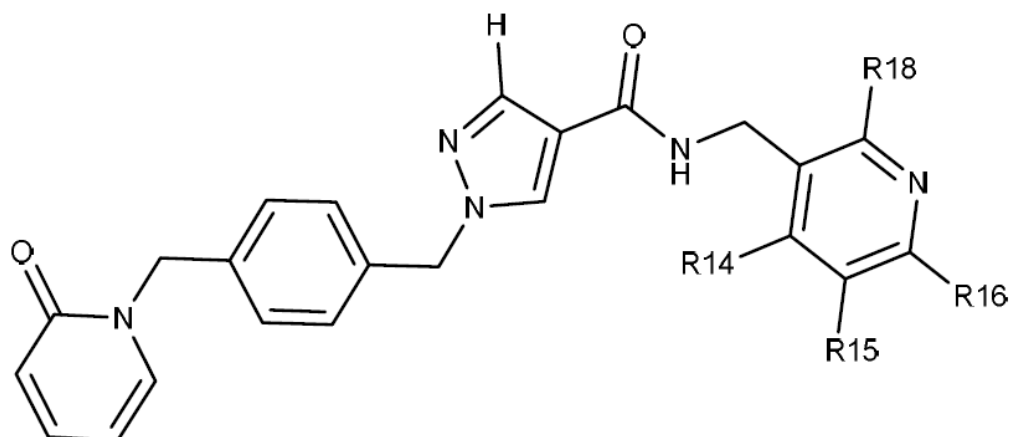
Datos complementarios para NC2017/0006230

Compuestos de la Tabla 2 de PCT/GB2015/053615



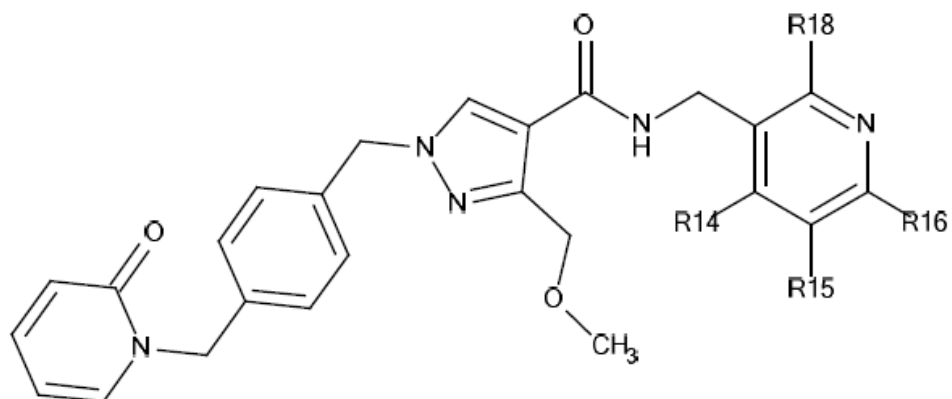
Ejemplo número	R14	R15	Base Libre MW	[M+H] ⁺
29	F	H	472,4	472,9
30	H	Cl	488,9	488,9

Tabla 2a (compuestos de referencia con un núcleo no sustituido en PCT/GB2015/053615)



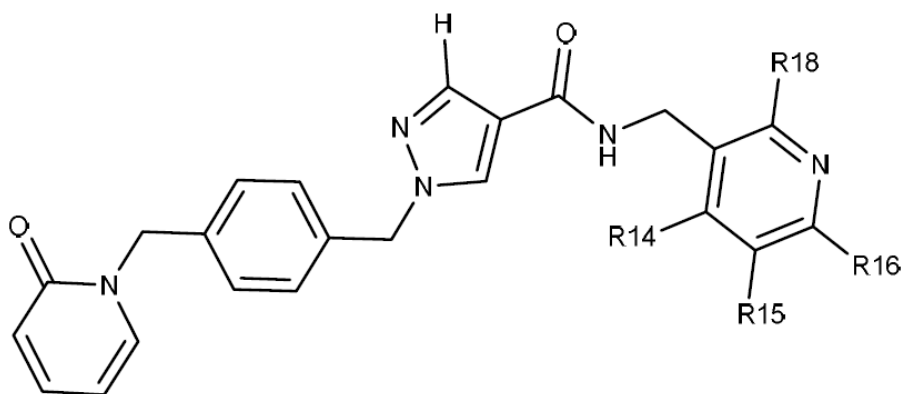
Ejemplo número	R14	R15	Base Libre MW	[M+H] ⁺
29a	F	H	404,5	404,7
30a	H	Cl	420,9	420,9

Compuestos de la Tabla 3 de PCT/GB2015/053615



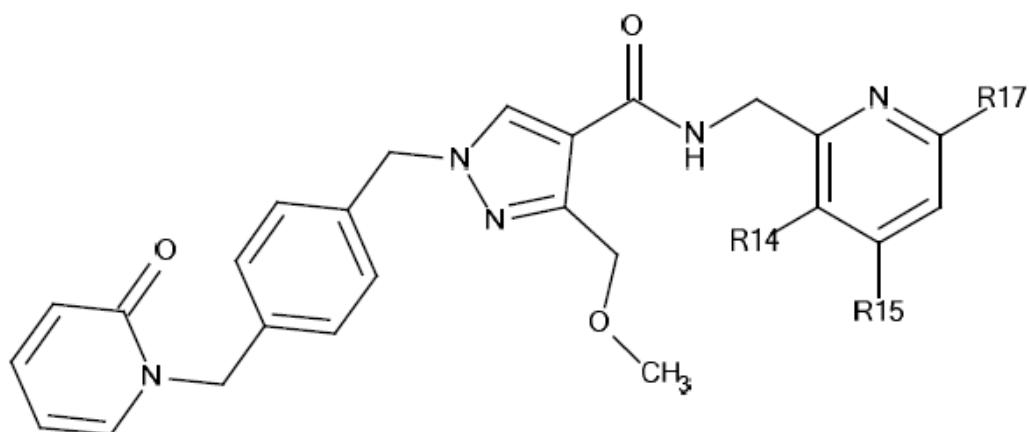
Ejemplo número	R14	R15	R16	R18	Base Libre MW	[M+H] ⁺
31	CF ₃	H	H	H	511,5	512,0
32	H	H	Me	H	457,5	458,3
36	H	H	H	CF ₃	511,5	512,3

Tabla 3a (compuestos de referencia con un núcleo no sustituido en PCT/GB2015/053615)



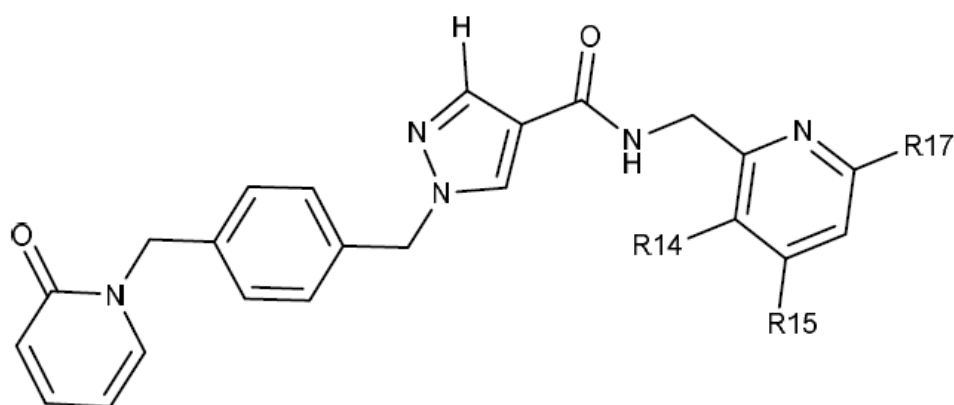
Ejemplo número	R14	R15	R16	R18	Base Libre MW	[M+H] ⁺
31a	CF ₃	H	H	H	467,5	468,0
32a	H	H	Me	H	413,5	414,3
36a	H	H	H	CF ₃	467,5	467,8

Compuestos de la Tabla 4 de PCT/GB2015/053615



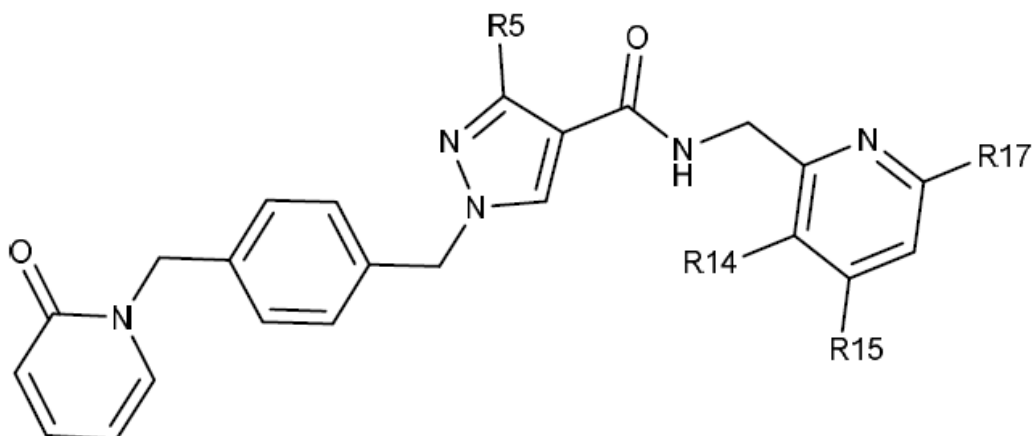
Ejemplo número	R14	R15	R17	Base Libre MW	[M+H] ⁺
41	F	OMe	H	491,5	492,0
42	F	H	OMe	491,5	492,3

Tabla 4a (compuestos de referencia con un núcleo no sustituido en PCT/GB2015/053615)



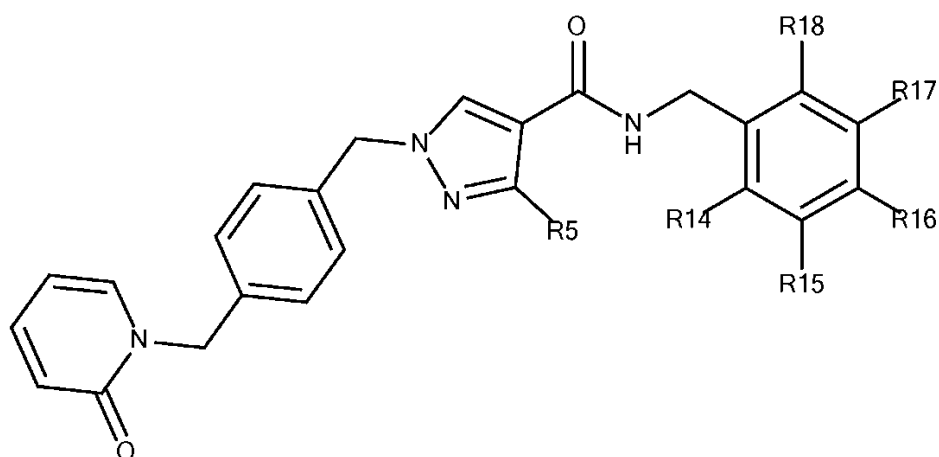
Ejemplo número	R14	R15	R17	Base Libre MW	[M+H] ⁺
41a	F	OMe	H	447,5	447,7
42a	F	H	OMe	447,5	447,9

Tabla 4b (Otros compuestos soportados por PCT/GB2015/053615 pero no ejemplificados en la solicitud)



Ejemplo número	R5	R14	R15	R17	Base Libre MW	[M+H] ⁺
41b	CF ₃	F	OMe	H	515,5	516,3
41c		F	OMe	H	487,5	488,3
41d	NMe ₂	F	OMe	H	490,5	491,4

Compuestos de la Tabla 7 de en PCT/GB2015/053615

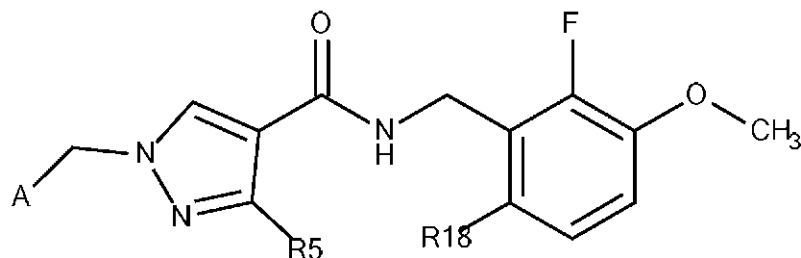


Ejemplo número	R5	R14	R15	R16	R17	R18	Base Libre MW	[M+H] ⁺
60	NH ₂	F	OMe	H	H	F	479,5	480,3
66	CH ₂ OMe	F	OMe	H	H	F	508,5	509,0

Tabla 7a (compuestos de referencia con un núcleo no sustituido)

Ejemplo número	R5	R14	R15	R16	R17	R18	Base Libre MW	[M+H] ⁺
66a	H	F	OMe	H	H	F	464,5	465,0

Compuestos de la Tabla 8 de en PCT/GB2015/053615



Ejemplo número	A	R5	R18	Base Libre MW	[M+H] ⁺
106		CH ₂ OMe	F	522,5	523,0
108		CH ₂ OMe	F	526,5	527,0
134		CH ₂ OMe	CN	502,5	503,4

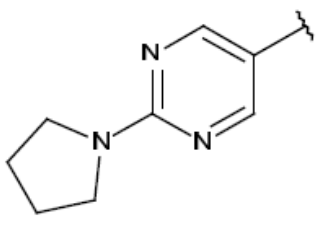
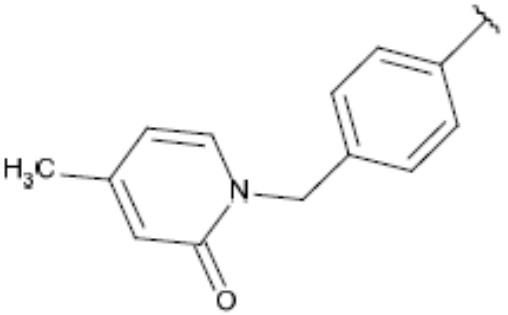
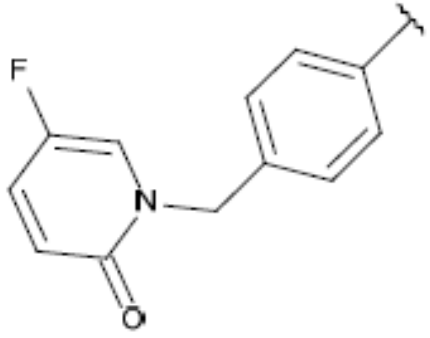
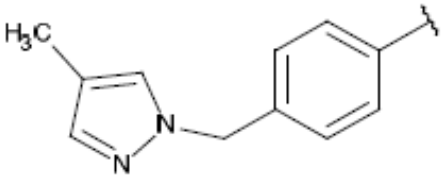
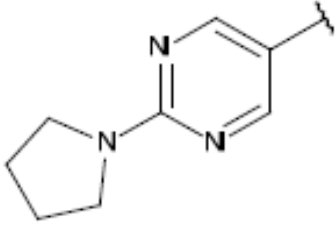
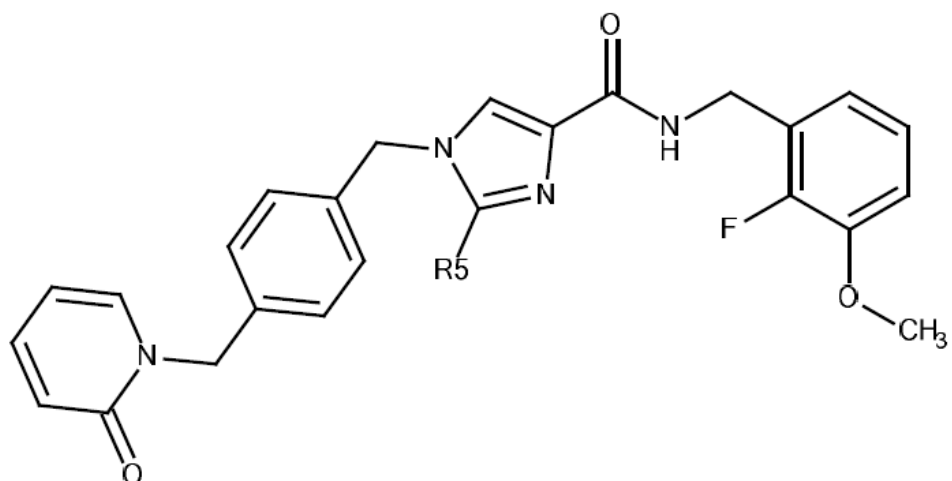
Ejemplo número	A	R5	R18	Base Libre MW	[M+H] ⁺
135		CH ₂ OMe	CN	479,5	480,3

Tabla 8a (compuestos de referencia con un núcleo no sustituido)

Ejemplo número	A	R5	R18	Base Libre MW	[M+H] ⁺
106a		H	F	478,5	478,9
108a		H	F	482,5	482,7
134a		H	CN	458,5	458,8
135a		H	CN	435,5	435,7

Compuestos de la Tabla 9 de PCT/GB2015/053615



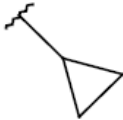
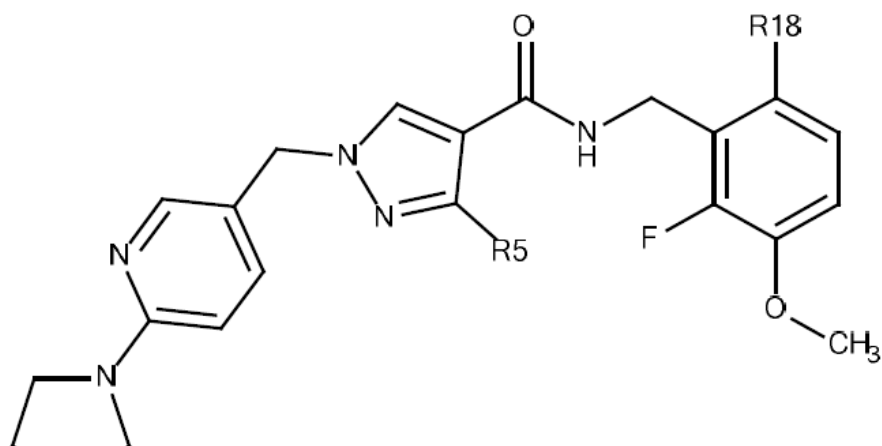
Ejemplo número	R5	Base Libre MW	[M+H] ⁺
121	Me	460,5	461,0
123		486,5	487,2
124	CF ₃	514,5	515,0

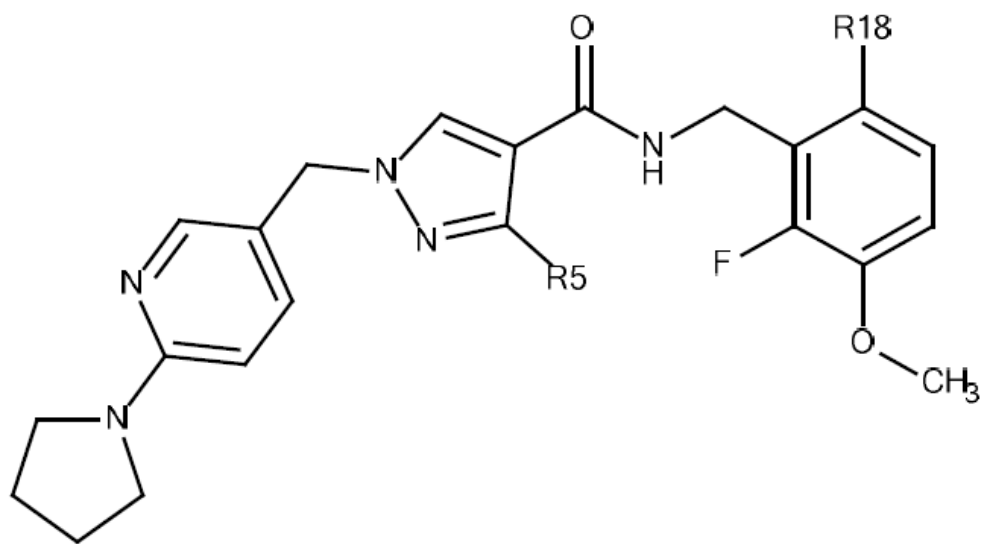
Tabla 9a (compuestos de referencia con un núcleo no sustituido)

Ejemplo número	R5	Base Libre MW	[M+H] ⁺
121a	H	446,47	447,2



Ejemplo número	R5	R18	Base Libre MW	[M+H] ⁺
138	CF ₃	CN	502,5	503,3

Tabla 10a (compuestos de referencia con un núcleo no sustituido)



Ejemplo número	R5	R18	Base Libre MW	[M+H] ⁺
138a	H	CN	434,5	434,7

Nombre de los compuestos adicionales

Ejemplo número	Nombre
29a	N-[(3-fluoropyridin-2-yl)methyl]-1-({4-[(4-methylpyrazol-1-yl)methyl]phenyl)methyl}-pyrazole-4-carboxamide
30a	N-[(4-chloropyridin-2-yl)methyl]-1-({4-[(4-methylpyrazol-1-yl)methyl]phenyl)methyl}-pyrazole-4-carboxamide
31a	1-({4-[(2-oxopyridin-1-yl)methyl]phenyl)methyl)-N-[[4-(trifluoromethyl)pyridin-3-yl]methyl]pyrazole-4-carboxamide
32a	N-[(6-methylpyridin-3-yl)methyl]-1-({4-[(2-oxopyridin-1-yl)methyl]phenyl)methyl}pyrazole-4-carboxamide
36a	1-({4-[(2-oxopyridin-1-yl)methyl]phenyl)methyl)-N-[[2-(trifluoromethyl)pyridin-3-yl]methyl]pyrazole-4-carboxamide
41a	N-[(3-fluoro-4-methoxypyridin-2-yl)methyl]-1-({4-[(2-oxopyridin-1-yl)methyl]phenyl)methyl}pyrazole-4-carboxamide
41b	N-[(3-fluoro-4-methoxypyridin-2-yl)methyl]-1-({4-[(2-oxopyridin-1-yl)methyl]phenyl)methyl}-3-(trifluoromethyl)pyrazole-4-carboxamide
41c	3-cyclopropyl-N-[(3-fluoro-4-methoxypyridin-2-yl)methyl]-1-({4-[(2-oxopyridin-1-yl)methyl]phenyl)methyl}pyrazole-4-carboxamide
41d	3-(dimethylamino)-N-[(3-fluoro-4-methoxypyridin-2-yl)methyl]-1-({4-[(2-oxopyridin-1-yl)methyl]phenyl)methyl}pyrazole-4-carboxamide
42a	N-[(3-fluoro-6-methoxypyridin-2-yl)methyl]-1-({4-[(2-oxopyridin-1-yl)methyl]phenyl)methyl}pyrazole-4-carboxamide
66a	N-[(2,6-difluoro-3-methoxyphenyl)methyl]-1-({4-[(2-oxopyridin-1-yl)methyl]phenyl)methyl}pyrazole-4-carboxamide
106a	N-[(2,6-difluoro-3-methoxyphenyl)methyl]-1-({4-[(4-methyl-2-oxopyridin-1-yl)methyl]phenyl)methyl}pyrazole-4-carboxamide
108a	N-[(2,6-difluoro-3-methoxyphenyl)methyl]-1-({4-[(5-fluoro-2-oxopyridin-1-yl)methyl]phenyl)methyl}-pyrazole-4-carboxamide
121a	N-[(2-fluoro-3-methoxyphenyl)methyl]-1-({4-[(2-oxopyridin-1-yl)methyl]phenyl)methyl}imidazole-4-carboxamide
134a	N-[(6-cyano-2-fluoro-3-methoxyphenyl)methyl]-1-({4-[(4-methylpyrazol-1-yl)methyl]phenyl)methyl}pyrazole-4-carboxamide
135a	N-[(6-cyano-2-fluoro-3-methoxyphenyl)methyl]-1-[[2-(pyrrolidin-1-yl)pyrimidin-5-yl]methyl]pyrazole-4-carboxamide
138a	N-[(6-cyano-2-fluoro-3-methoxyphenyl)methyl]-1-[[6-(pyrrolidin-1-yl)pyridin-3-yl]methyl]pyrazole-4-carboxamide

Ejemplo número	Desplazamiento Químico
29a	(CDCl ₃) 2,04 (3H, s), 4,75 (2H, br d, J=3,5Hz), 5,19 - 5,25 (2H, m), 5,28 (2H, s), 7,10 - 7,45 (9H, m), 7,87 (2H, d, J=4,4Hz), 8,32 - 8,42 (1H, m)
30a	(CDCl ₃) 2,05 (3H, s), 4,65 (2H, d, J=4,9Hz), 5,22 (2H, s), 5,27 (2H, s), 6,92 - 7,02 (1H, m), 7,10 - 7,39 (6H, m), 7,32 (2H, s), 7,84 (2H, s), 8,43 (1H, d, J=5,5Hz)
31a	4,60 (2H, d, J=5,2Hz), 5,07 (2H, s), 5,33 (2H, s), 6,18 - 6,27 (1H, m), 6,40 (1H, d, J=9,3Hz), 7,21 - 7,31 (4H, m), 7,38 - 7,45 (1H, m), 7,70 - 7,80 (2H, m), 7,91 (1H, s), 8,29 (1H, s), 8,66 - 8,73 (1H, m), 8,73 - 8,80 (2H, m)
36a	4,59 (2H, br d, J=5,5Hz), 5,08 (2H, s), 5,33 (2H, s), 6,22 (1H, t, J=6,0Hz), 6,40 (1H, d, J=9,3Hz), 7,22 - 7,28 (4H, m), 7,41 (1H, s), 7,69 (1H, dd, J=8,0, 4,8Hz), 7,75 (1H, dd, J=6,7, 2,0Hz), 7,89 - 7,98 (2H, m), 8,28 (1H, s), 8,61 (1H, d, J=4,1Hz), 8,66 - 8,74 (1H, m)
41a	3,92 (3H, s), 4,51 (2H, dd, J=5,6, 2,0Hz), 5,07 (2H, s), 5,31 (2H, s), 6,19 - 6,25 (1H, m), 6,37 - 6,43 (1H, m), 7,13 - 7,19 (1H, m), 7,20 - 7,29 (4H, m), 7,37 - 7,44 (1H, m), 7,73 - 7,75 (1H, m), 7,88 (1H, s), 8,20 - 8,25 (2H, m), 8,48 (1H, m)
41b	3,91 (3H, s), 4,49 (2H, dd, J = 5,7, 2,2Hz), 5,08 (2H, s), 5,40 (2H, s), 6,23 (1H, td, J = 6,7, 6,7, 1,4Hz), 6,36 - 6,41 (1H, m), 7,18 (1H, dd, J = 6,7, 5,7Hz), 7,29 (4H, s), 7,41 (1H, ddd, J = 8,9, 6,6, 2,1Hz), 7,76 (1H, ddd, J = 6,8, 2,1, 0,7Hz), 8,21 (1H, d, J = 5,5Hz), 8,39 - 8,46 (1H, m), 8,70 (1H, t, J = 5,6, 5,6Hz)
41c	(CD ₃ OD) 0,80-0,90 (2H, m), 0,90-0,99 (2H, m), 2,41 (1H, tt, J = 8,4, 5,1Hz), 3,99 (3H, s), 4,66 (2H, d, J = 2,1Hz), 5,20 (2H, s), 5,23 (2H, s), 6,40 (1H, td, J = 6,7, 1,4Hz), 6,58 (1H, dt, J = 9,2, 0,9Hz), 7,14 (1H, dd, J = 6,6, 5,7Hz), 7,23 (2H, d, J = 8,1Hz), 7,32 (2H, d, J = 8,1Hz), 7,54 (1H, ddd, J = 8,9, 6,7, 2,0Hz), 7,70 (1H, dd, J = 6,8, 2,0Hz), 8,00 (1H, s), 8,21 (1H, d, J = 5,6Hz)
41d	2,69 (6H, s), 3,92 (3H, s), 4,53 (2H, dd, J = 5,9, 2,0Hz), 5,07 (2H, s), 5,15 (2H, s), 6,20 - 6,24 (1H, m), 6,40 (1H, d, J = 8,9Hz), 7,16-7,28 (4H, m), 7,39-7,43 (1H, m), 7,76 (1H, dd, J = 6,9, 1,9Hz), 8,04 (2H, s), 8,23 (1H, d, J = 5,5Hz), 8,32 (1H, t, J = 5,4Hz)
42a	3,77 (3H, s), 4,46 (2H, dd, J=5,7, 1,9Hz), 5,07 (2H, s), 5,31 (2H, s), 6,19 - 6,25 (1H, m), 6,40 (1H, dd, J=9,3, 1,4Hz), 6,75 (1H, dd, J=8,7, 3,0Hz), 7,20 - 7,30 (4H, m), 7,41 (1H, ddd, J=9,1, 6,7, 2,2Hz), 7,61 (1H, t, J=8,9Hz), 7,72 - 7,77 (1H, m), 7,89 (1H, s), 8,24 (1H, s), 8,41 (1H, t, J=5,6Hz)
66a	3,82 (3H, s), 4,42 (2H, d, J=5,2Hz), 5,05 - 5,08 (2H, m), 5,29 (2H, s), 6,19 - 6,25 (1H, m), 6,37 - 6,42 (1H, m), 6,97 - 7,04 (1H, m), 7,07 - 7,16 (1H, m), 7,19 - 7,28 (4H, m), 7,41 (1H, ddd, J=9,0, 6,7, 2,0Hz), 7,73 (1H, dd, J=6,8, 2,2Hz), 7,84 (1H, s), 8,20 (1H, d, J=0,6Hz), 8,34 - 8,38 (1H, m)
106a	2,07 - 2,15 (3H, m), 3,82 (3H, s), 4,43 (2H, br d, J=5,2 Hz), 4,99 - 5,06 (2H, m), 5,28 (2H, s), 6,08 (1H, dd, J=7,0, 1,8Hz), 6,21 (1H, s), 6,96 - 7,03 (1H, m), 7,08 - 7,16 (1H, m), 7,18 - 7,28 (4H, m), 7,57 - 7,64 (1H, m), 7,83 - 7,87 (1H, m), 8,17 - 8,22 (1H, m), 8,33 - 8,39 (1H, m)
108a	3,82 (3H, s), 4,43 (2H, d, J=5,2Hz), 5,02 (2H, s), 5,30 (2H, s), 6,39 - 6,48 (1H, m), 6,94 - 7,04 (1H, m), 6,99 - 7,02 (1H, m), 7,08 - 7,16 (1H, m), 7,17 - 7,25 (1H, m), 7,22 - 7,23 (1H, m), 7,25 - 7,33 (2H, m), 7,51 - 7,60 (1H, m), 7,79 - 7,90 (1H, m), 7,98 - 8,03 (1H, m), 8,20 - 8,23 (1H, m), 8,33 - 8,39 (1H, m)
121a	3,82 (3H, s), 4,42 (2H, d, J = 6,3Hz), 5,07 (2H, s), 5,21 (2H, s), 6,22 (1H, t, J = 6,7Hz), 6,40 (1H, d, J = 9,1Hz), 6,83 (1H, dd, J = 5,6, 5,2Hz), 7,03 (2H, t, J = 5,1Hz), 7,26 - 7,32 (4H, m), 7,41 (1H, ddd, J = 8,9, 6,5, 2,0Hz), 7,71 (1H, s), 7,76 (1H, dd, J = 6,9, 2,0Hz), 7,84 (1H, s), 8,39 (1H, t, J = 6,3 Hz)

Ejemplo número	Desplazamiento Químico
134a	1,99 (3H, s), 3,92 (3H, s), 4,48 - 4,54 (2H, m), 5,21 (2H, s), 5,28 - 5,32 (2H, m), 7,14 - 7,25 (5H, m), 7,25 - 7,33 (1H, m), 7,51 (1H, t, $J=0,8\text{Hz}$), 7,66 (1H, dd, $J=8,7, 1,6\text{Hz}$), 7,84 (1H, s), 8,17 - 8,21 (1H, m), 8,48 - 8,54 (1H, m)
135a	(d3 acetonitrile) 1,94 - 2,02 (4H, m), 3,49 (4H, br t, $J=6,8\text{Hz}$), 3,91 (3H, s), 4,60 (2H, dd, $J=5,6, 1,5\text{Hz}$), 5,08 (2H, s), 6,99 - 7,08 (1H, m), 7,12 (1H, t, $J=8,5\text{Hz}$), 7,49 - 7,55 (1H, m), 7,74 (1H, s), 7,92 (1H, s), 8,28 (2H, s)
138a	1,89 - 1,96 (4H, m), 3,30 - 3,21 (4H, m), 3,92 (3H, s), 4,48 - 4,53 (2H, m), 5,13 - 5,17 (2H, m), 6,38 - 6,44 (1H, m), 7,28 (1H, t, $J=8,6\text{Hz}$), 7,44 (1H, dd, $J=8,7, 2,5\text{ Hz}$), 7,66 (1H, dd, $J=8,7, 1,6\text{Hz}$), 7,82 (1H, d, $J=0,6\text{Hz}$), 8,06 - 8,10 (1H, m), 8,13 (1H, d, $J=0,8\text{Hz}$), 8,51 (1H, s)

Datos de permeabilidad in vitro.

La permeabilidad in vitro se determinó utilizando el modelo de Caco-2 para la absorción oral. La metodología se adaptó de métodos estándares publicados (Wang Z, Hop C, E, Leung K, H y Pang J, (2000) J Mass Spectrom 35 (1); 71-76), Las monocapas de Caco-2 se establecieron en un sistema de inserción de pozos múltiples Biocoat™ HTS con colágeno fibrilar de 24 pozos (1,0 μm , membrana PET, Corning 354803) en el que se sembraron 200,000 células en cada inserto y se mantuvieron durante 3 días antes de ser utilizadas en el ensayo de permeabilidad, para el ensayo, se agregan 10 μM o 50 μM de compuesto de prueba al lado apical de los insertos y se incubó durante 1 hora a 37 °C en una plataforma de agitación (120 rpm). El transporte apical a basolateral se determinó midiendo el artículo de prueba en ambos compartimentos mediante LCMS después de 1 hora de incubación. La integridad de las monocapas de Caco-2 se confirmó mediante dos métodos, (i) la comparación de la resistencia eléctrica transepitelial antes y después del experimento (TEER) y, (ii) la evaluación del flujo de Luciferina Amarillo.

Los resultados del ensayo de permeabilidad in vitro se muestran a continuación para varios compuestos de la presente invención. Los datos para los compuestos equivalentes con un núcleo de 5 miembros no sustituido se presentan junto a los datos para los compuestos de la invención:

NÚCLEO DE 5 MIEMBROS SUSTITUIDO (compuestos de la invención)		NÚCLEO DE 5 MIEMBROS SUSTITUIDO (compuestos de referencia)	
Ejemplo número	Caco-2 (Papp x10 ⁻⁶ cm/s)	Ejemplo número	Caco-2 (Papp x10 ⁻⁶ cm/s)
29	24	29a	17,8
30	16,4	30a	15,1
31	5,7	31a	3,2
32	5,7	32a	0,9
36	14,6	36a	3,7
41	9,0	41a	3,1
41b	16,5	41a	3,1
41c	9,5	41a	3,1
41d	10,4	41a	3,1
42	20,9	42a	9,8
60	7,1	66a	3,2
66	17,7	66a	3,2
106	10,3	106a	3,4
108	15,5	108a	5,0
121	19,8	121a	11,2
123	12,0	121a	11,2
124	16,5	121a	11,2
134	27,7	134a	8,0
135	19,3	135a	10,1
138	14,2	138a	12,2

IC₅₀ (calicreína de plasma y KLK1) para los Ejemplos 41b, 41c y 41d**Determinación de la IC₅₀ para la calicreína plasmática**

La actividad inhibitoria de la calicreína plasmática *in vitro* se determinó utilizando métodos estándares publicados (ver por ejemplo Johansen *et al.*, Int. J. Tiss. Reac. 1986, **8**, 185; Shori *et al.*, Biochem. Pharmacol., 1992, **43**, 1209; Stürzebecher *et al.*, Biol. Chem. Hoppe-Seyler, 1992, **373**, 1025), la calicreína plasmática humana (Protogen) se incubó a 25 °C con el sustrato fluorogénico H-DPro-Phe-Arg-AFC y varias concentraciones del compuesto de prueba, la actividad de la enzima residual (velocidad inicial de reacción) se determinó midiendo el cambio en la absorbancia óptica a 410 nm y se determinó el valor de IC₅₀ para el compuesto de ensayo.

Determinación de la IC₅₀ para KLK1

La actividad inhibitoria de KLK1 *in vitro* se determinó utilizando métodos estándar publicados (ver por ejemplo Johansen *et al.*, Int. J. Tiss. Reac. 1986, **8**, 185; Shori *et al.*, Biochem. Pharmacol., 1992, **43**, 1209; Stürzebecher *et al.*, Biol. Chem. Hoppe-Seyler, 1992, **373**, 1025), KLK1 Humana (Callbiochem) se incubó a 25 °C con el sustrato fluorogénico H-DVal-Leu-Arg-AFC y varias concentraciones de el compuesto de prueba.

Los resultados de los ensayos se muestran en la siguiente tabla:

Ejemplo número	IC₅₀ (human PKal) nM	IC₅₀ (human KLK1) nM
41b	3,2	>40000
41c	9,5	>40000
41d	18,4	>40000