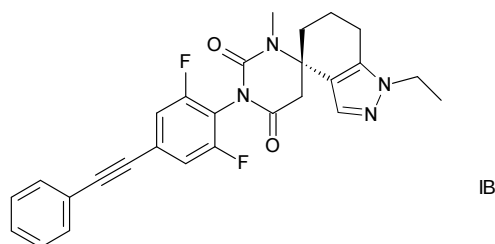
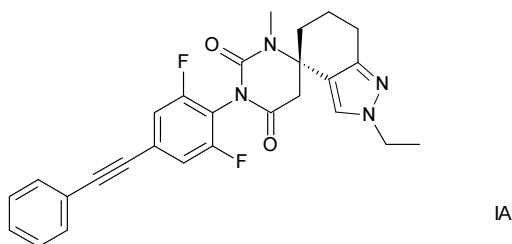


DERIVADOS DE ETINILO

La presente invención se refiere a compuestos de fórmulas IA y IB



- 5 o a una sal o sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable, a una mezcla racémica o a su enantiómero y/o isómero óptico y/o estereoisómero correspondiente de los mismos.

Inesperadamente se ha encontrado que los compuestos de fórmulas general IA y IB son moduladores alostéricos positivos (MAP) del receptor metabotrópico del glutamato 4 (mGluR4). El receptor metabotrópico del glutamato 4 es una proteína que en el ser humano se encuentra codificado por el gen *GRM4*.

10

Conjuntamente con GRM6, GRM7 y GRM8 pertenece al grupo III de la familia del receptor metabotrópico del glutamato y se encuentra acoplado negativamente a la adenilato ciclase mediante la activación de la proteína *Gai/o*. Se expresa principalmente en terminales presinápticos, funcionando como autorreceptor o heterorreceptor y su activación conduce a una reducción de la liberación de transmisor a partir de terminales presinápticos. Actualmente mGluR4 está recibiendo mucha atención basándose principalmente en su distribución única y datos recientes de que la activación de este receptor desempeña una función moduladora clave en muchas rutas del SNC y fuera del SNC (Celanire S., Campo B., Expert Opinion in Drug Discovery, 2012).

15

20

La similitud en los dominios de unión de ligando de los mGluR de grupo III crea un reto en la identificación de los agonistas ortostéricos selectivos de este receptor, aunque se han realizado algunos avances en este área. Sin embargo, que los moduladores alostéricos positivos (MAP) sean la diana y no los agonistas ortostéricos proporciona una oportunidad
5 más amplia para identificar las moléculas que son exclusivamente selectivas de entre los mGluR.

Los MPA mGluR4 están emergiendo como agentes terapéuticos prometedores para el tratamiento de síntomas motores (y no motores), además de como un agente modificador
10 en la enfermedad de Parkinson a través de una vía no dopaminérgica.

La enfermedad de Parkinson es una enfermedad neurodegenerativa progresiva que resulta en la pérdida de neuronas dopaminérgicas en la sustancia negra (SN). Una consecuencia es el agotamiento de la dopamina en esta enfermedad es una serie de trastornos del
15 movimiento, incluyendo la bradiquinesia, aquinesia, temblores, trastornos de la marcha y problemas con el equilibrio. Estas alteraciones motoras constituyen el sello distintivo de la EP, aunque existen muchos otros síntomas no motores asociados a la enfermedad.

Precozmente en el curso de la enfermedad, los síntomas de la EP se tratan eficazmente
20 mediante la sustitución o incremento de la dopamina, con la utilización de agonistas de receptores de la dopamina D2, levodopa o inhibidores de la monoamina oxidasa B. Sin embargo, a medida que avanza la enfermedad estos agentes resultan menos eficaces para controlar los síntomas motores. Adicionalmente, su utilización se encuentra limitada por la aparición de efectos adversos, incluyendo las disquinesias inducidas por agonistas de la
25 dopamina.

En consecuencia, sigue existiendo una necesidad de nuevos enfoques para el tratamiento de la EP que mejoren la eficacia del control de los síntomas motores.

30 Se ha propuesto la activación del receptor metabotrópico del glutamato 4 (mGluR4) como enfoque terapéutico potencial para la enfermedad de Parkinson. Un miembro del grupo de los mGluR de grupo II, el mGluR4 es predominantemente un receptor presináptico del glutamato que se expresa en varias localizaciones clave en los circuitos ganglionares

basales La activación de mGluR4 con agonistas con preferencia para el grupo III reduce los potenciales inhibidores y excitatorios post-sinápticos, presumiblemente al reducir la liberación de GABA y glutamato, respectivamente.

- 5 La búsqueda de nuevos fármacos que alivien los síntomas motores del parkinsonismo, atenuando simultáneamente la degeneración continua de las neuronas nigroestriatales resulta de particular interés. El agonista ortoestérico de mGluR4 L-AP4 ha demostrado presentar efectos neuroprotectores en un modelo de roedor de 6-OHDA de la EP y un primer modulador alostérico positivo, (-)-PHCCC, redujo la degeneración nigroestriatal en
- 10 ratones tratados con 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP). Estos estudios proporcionan datos preclínicos convincentes que sugieren que los activadores de mGluR4 constituyen un enfoque válido no sólo para los tratamientos sintomáticos de la EP sino también potencialmente como modificadores de la enfermedad para dicha indicación.
- 15 Los efectos neuroprotectores de los moduladores selectivos de mGluR4 también se han descrito en *Neuroreport* 19(4):475-8, 2008, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100(23):13668-73, 2003 y *J. Neurosci.* 26(27):7222-9, 2006 y *Mol. Pharmacol.* 74(5):1345-58, 2008.

- Los trastornos de ansiedad son de entre los trastornos psiquiátricos más prevalentes en todo
- 20 el mundo y son comórbidos con la enfermedad de Parkinson (Prediger R. et al., *Neuropharmacology* 62:115-24, 2012). La neurotransmisión glutamatérgica excesiva es una característica importante de la fisiopatología de la ansiedad. Basándose en la localización presináptica de mGluR4 en áreas del cerebro que participan en la ansiedad y los trastornos del humor, y amortiguando la excesiva excitabilidad del cerebro, los
- 25 activadores de mGluR4 podrían representar una nueva generación de terapéuticos ansiolíticos (*Eur. J. Pharmacol.* 498(1-3):153-6, 2004).

- Addex informó en 2010 de que ADX88178 era activo en dos modelos preclínicos de roedor de la ansiedad: el ensayo de enterramiento de canicas en ratones y la prueba de
- 30 laberinto elevado (EPM, Elevated Plus-Maze) en ratones y ratas. ADX88178 también mostró un perfil de tipo ansiolítico en el ensayo de EPM en ratas tras la administración oral.

También se demostró que los moduladores de mGluR4 ejercían acciones antidepresivas (Neuropharmacology 46(2):151-9, 2004).

Además, también se ha demostrado que los moduladores de mGluR4 participan en la inhibición de la secreción del glucagón (Diabetes 53(4):998-1006, 2004). Por lo tanto, los moduladores ortoestéricos o alostéricos positivos de mGluR4 presentan el potencial de constituir un tratamiento de la diabetes de tipo 2 a través de su efecto hipoglucémico.

Además, se ha demostrado que mGluR4 se expresa en la línea celular de cáncer de próstata (Anticancer Res. 29(1):371-7, 2009) o en el carcinoma colorrectal (Clin. Cancer Research 11(9):3288-95, 2005). Por lo tanto, los moduladores de mGluR4 también podrían presentar un papel potencial en el tratamiento de los cánceres.

Pueden esperarse otros efectos propuestos de los MAP mGluR4 en el tratamiento de la emesis, el trastorno obsesivo-compulsivo, la anorexia y el autismo.

Los compuestos de fórmulas IA y IB se distinguen porque presentan propiedades terapéuticas valiosas. Pueden utilizarse en el tratamiento o la prevención de trastornos, relacionados con los moduladores alostéricos del receptor de mGluR4.

Las indicaciones más preferentes para los compuestos que son moduladores alostéricos para el receptor de mGluR4 son la enfermedad de Parkinson, la ansiedad, la emesis, el trastorno obsesivo-compulsivo, la anorexia, el autismo, la neuroprotección, el cáncer, la depresión y la diabetes de tipo 2.

La presente invención se refiere a compuestos de fórmulas IA y IB, y a las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, a estos compuestos como sustancias farmacéuticamente activas, a los procedimientos para su producción, así como a la utilización en el tratamiento o la prevención de trastornos, relacionados con los moduladores alostéricos del receptor de mGluR4, tales como la enfermedad de Parkinson, la ansiedad, la emesis, el trastorno obsesivo-compulsivo, el autismo, la neuroprotección, el

cáncer, la depresión y la diabetes de tipo 2, y a composiciones farmacéuticas que contienen los compuestos de fórmulas IA y IB.

5 Un objetivo adicional de la presente invención es un método para el tratamiento o la profilaxis de la enfermedad de Parkinson, la ansiedad, la emesis, el trastorno obsesivo-compulsivo, la anorexia, el autismo, la neuroprotección, el cáncer, la depresión y la diabetes de tipo 2, comprendiendo el método la administración de una cantidad eficaz de un compuesto de fórmulas IA y IB en un mamífero que lo requiere.

10 Además, la invención incluye todas las mezclas racémicas, y la totalidad de sus enantiómeros y/o isómeros ópticos correspondientes, o análogos que contienen isótopos de hidrógeno, flúor, carbono, oxígeno o nitrógeno.

15 La expresión "sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable" comprende una sal con ácidos inorgánicos y orgánicos, tales como ácido clorhídrico, ácido nítrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido cítrico, ácido fórmico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido acético, ácido succínico, ácido tartárico, ácido metanosulfónico o ácido p-toluenosulfónico.

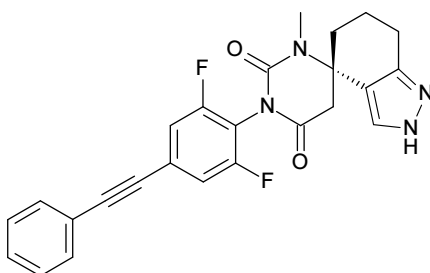
20 La preparación de compuestos de fórmula IA y IB de la presente invención puede llevarse a cabo en rutas sintéticas secuenciales o convergentes. Las síntesis de los compuestos de la invención se muestran en el esquema siguiente 1. El experto en la materia posee los conocimientos necesarios para llevar a cabo la reacción y la purificación de los productos resultantes. Los sustituyentes e índices utilizados en la descripción siguiente de los
25 procedimientos presentan los significados proporcionados anteriormente en la presente memoria.

Los compuestos de fórmulas IA y IB pueden prepararse mediante los métodos proporcionados posteriormente, mediante los métodos proporcionados en los ejemplos o
30 mediante métodos análogos. Las condiciones de reacción apropiadas para las etapas de reacción individuales son conocidas por el experto en la materia. La secuencia de reacción no se encuentra limitada a la mostrada en los esquemas; sin embargo, según los materiales de partida y su reactividad respectiva puede alterarse libremente la secuencia de las etapas de reacción. Las materias primas se encuentran disponibles comercialmente o pueden

prepararse mediante métodos análogos a los métodos proporcionados posteriormente, mediante métodos descritos en las referencias citadas en la descripción o en los ejemplos, o mediante métodos conocidos de la técnica.

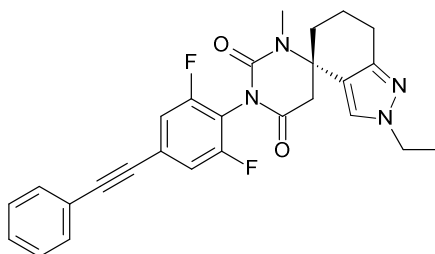
- 5 Los presentes compuestos de fórmula IA y IB y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos pueden prepararse mediante métodos conocidos de la técnica, por ejemplo mediante la variante de procedimiento descrita posteriormente, comprendiendo el procedimiento:

- 10 - alquilar un compuesto de fórmula:

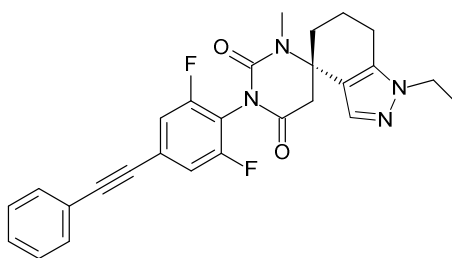


12

con yoduro de etilo y separar los isómeros de un compuesto de fórmulas:



IA

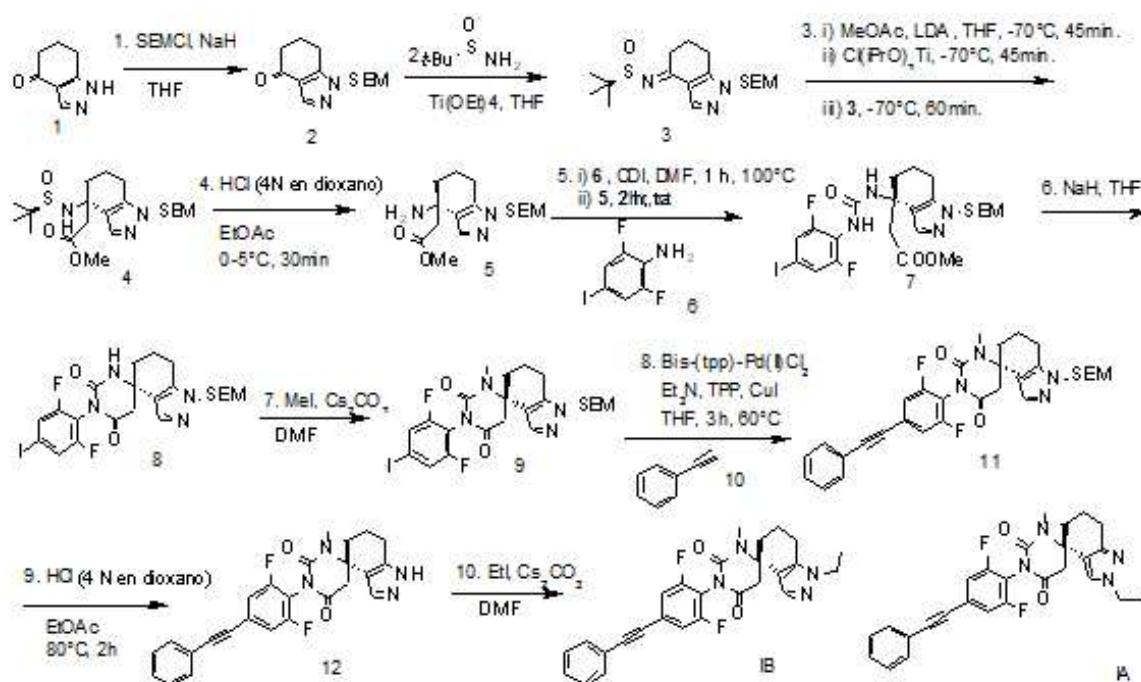


IB

- 15 o, si se desea, convertir los compuestos obtenidos en sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

La preparación de compuestos de fórmulas IA y IB se describe en mayor detalle en el Esquema 1 y en los Ejemplos 1 a 2.

Esquema 1



5

Pueden obtenerse compuestos de fórmula general **I** mediante, por ejemplo, la reacción de 2,6-difluoro-4-yodo-fenilamina **6** con el aminoéster apropiadamente sintetizado de fórmula **5** con CDI en un solvente, tal como DMF, para formar el análogo de urea deseado de fórmula **7**. El cierre de anillos de **7** con una base fuerte tal como NaH y la introducción de metilo mediante alquilación del pirazol protegido **8** forma el compuesto alquilado deseado **9**. El acoplamiento de Sonogashira **9** con fenilacetileno **10** forma, después de la desprotección del grupo SEM, el compuesto etinilo deseado **12**. La introducción de etilo mediante alquilación y separación de los isómeros formados rinden los compuestos finales deseados de fórmula **I** (Esquema 1).

15

En términos generales, la secuencia de etapas utilizada para sintetizar el compuesto de fórmula **I** también puede modificarse en determinados casos.

20

Ensayo biológico y datos:

Determinación de valores de EC₅₀ utilizando un ensayo *in vitro* de movilización de Ca²⁺ en mGlu4 humano recombinante expresado en células HEK293:

Se generó una línea celular HEK-293 monoclonal establemente transfectada con un ADNc codificante del receptor mGlu4 humano; para los moduladores alostéricos positivos (MAP) de mGlu4 se seleccionó una línea celular con niveles bajos de expresión de receptores y una baja actividad constitutiva de los mismos, para permitir la diferenciación de las actividades agonista y de PAM. Las células se cultivaron siguiendo protocolos estándares (Freshney, 2000) en medio de Eagle modificado por Dulbecco rico en glucosa complementado con glutamina 1 mM, suero bovino inactivado por calor al 10% (v/v), penicilina/estreptomicina, higromicina 50 µg/ml y blasticidina 15 µg/ml (todos los reactivos de cultivo celular y antibióticos procedían de Invitrogen, Basel, Suiza).

Aproximadamente 24 horas antes del experimento, se sembraron 5×10^4 células/pocillo en placas de 96 pocillos de fondo negro/transparente recubiertos con poli-D-lisina. Las células se cargaron con Flu-4AM 2,5 µM en tampón de carga (1xHBSS, HEPES 20 mM) durante 1 hora a 37°C y se lavaron cinco veces con tampón de carga. Las células se transfirieron a un sistema de cribado funcional de fármacos 7000 (Hamamatsu, Paris, Francia) y se añadieron 11 diluciones semilogarítmicas en serie del compuesto de ensayo a 37°C y las células se incubaron durante 10 a 30 minutos con registro continuo de la fluorescencia. Tras dicha etapa de preincubación, se añadió el agonista ácido (2S)-2-amino-4-fosfonobutanoico (L-AP4) a las células a una concentración correspondiente a la EC_{20} con registro continuo de la fluorescencia; con el fin de explicar las variaciones entre días de respuesta de las células, se determinó la EC_{20} de L-AP4 inmediatamente antes de cada experimento mediante el registro de una curva de dosis-respuesta completa de L-AP4.

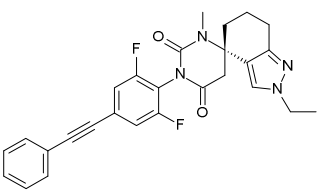
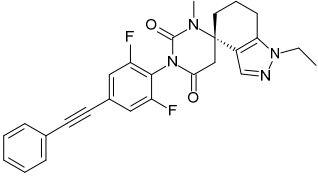
Las respuestas se midieron como pico de incremento de la fluorescencia menos nivel basal (es decir, la fluorescencia sin adición de L-AP4), normalizado respecto al efecto estimulador máximo obtenido con concentraciones saturantes de L-AP4. Los gráficos se prepararon con el % de la máxima estimulación utilizando XLfit, un programa de ajuste de curvas que dibuja iterativamente los datos aplicando el algoritmo Levenburg Marquardt. La ecuación del análisis de competición por un solo sitio era $y = A + ((B-A)/(1+((x/C)^D)))$, en la que y es el % del efecto estimulador máximo, A es el y mínimo, B es el y máximo, C es la EC_{50} , x es el log10 de la concentración del compuesto competidor y D es la pendiente de la curva (el coeficiente de Hill). A partir de dichas curvas se calcula la EC_{50} (concentración de fármaco a la que se alcanza una estimulación que es 50% de la máxima),

el coeficiente de Hill, así como la respuesta máxima en % del efecto estimulador máximo obtenido con concentraciones saturantes de L-AP4 (ver la fig. 1).

Las señales positivas obtenidas durante la preincubación con los compuestos de ensayo PAM (es decir, antes de la aplicación de una concentración EC_{20} de L-AP4) son indicativas de una actividad agonista, y la ausencia de dichas señales demuestra la ausencia de actividades agonistas. Una depresión de la señal observada tras la adición de la concentración EC_{20} de L-AP4 es indicativa de una actividad inhibidora del compuesto de ensayo.

Fig. 1: ilustración del diseño experimental del ensayo de cribado de movilización de Ca^{2+} de MAP de mGlu4 y determinación de los valores de EC_{50} y % de E_{max}

Lista de Ejemplos y datos:

	Estructura	Nombre	EC_{50} (nM) PAM mGlu4	Ef. (%)
1		(4S)-3'-[2,6-Difluoro-4-(2-feniletinil)fenil]-2-etil-1'-metil-spiro[6,7-dihidro-5H-indazol-4,6'-hexahidropirimidín]-2',4'-diona	77	132
2		(4S)-3'-[2,6-Difluoro-4-(2-feniletinil)fenil]-1-etil-1'-metil-spiro[6,7-dihidro-5H-indazol-4,6'-hexahidropirimidin]-2',4'-diona	85	136

Los compuestos de fórmulas IA y IB y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos pueden utilizarse como medicamentos, por ejemplo en forma de preparaciones farmacéuticas. Las preparaciones farmacéuticas pueden administrarse oralmente, por ejemplo en forma de tabletas, tabletas recubiertas, grageas, cápsulas de gelatina dura y blanda, soluciones, emulsiones o suspensiones. Sin embargo, la administración también

puede llevarse a cabo por vía rectal, por ejemplo en la forma de supositorios, o por vía parenteral, por ejemplo en la forma de soluciones para inyección.

Los compuestos de fórmulas IA y IB y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos pueden procesarse con portadores inorgánicos u orgánicos farmacéuticamente inertes para la producción de preparaciones farmacéuticas. Puede utilizarse lactosa, almidón de maíz o derivados de los mismos, talco, ácido esteárico o sales del mismo, y similares, por ejemplo, a modo de dichos portadores para tabletas, tabletas recubiertas, grageas y cápsulas de gelatina dura. Son portadores adecuados para las cápsulas de gelatina blanda, por ejemplo, aceites vegetales, ceras, grasas, polioles semisólidos y líquidos, y similares; dependiendo de la naturaleza de la sustancia activa, sin embargo, habitualmente no se requiere ningún portador en el caso de las cápsulas de gelatina blanda. Son portadores adecuados para la producción de soluciones y jarabes, por ejemplo, agua, polioles, sacarosa, azúcar invertido, glucosa y similares. Pueden utilizarse adyuvantes, tales como alcoholes, polioles, glicerol, aceites vegetales y similares, para soluciones acuosas para inyección de sales solubles en agua de compuestos de fórmulas IA y IB, aunque a modo de regla general no resultan necesarios. Son portadores adecuados para supositorios, por ejemplo, aceites naturales o endurecidos, ceras, grasas, polioles semisólidos y líquidos, y similares.

Además, las preparaciones farmacéuticas pueden contener conservantes, solubilizantes, estabilizantes, agentes humectantes, emulsionantes, edulcorantes, colorantes, saborizantes, sales para modificar la presión osmótica, tampones, agentes enmascaradores o antioxidantes. También pueden contener todavía otras sustancias terapéuticamente valiosas.

Tal como se ha indicado anteriormente, los medicamentos que contienen un compuesto de fórmulas IA y IB o sales farmacéuticamente aceptables del mismo y un excipiente terapéuticamente inerte también son un objetivo de la presente invención, así como un procedimiento para la producción de dichos medicamentos que comprende incluir uno o más compuestos de fórmulas IA y IB o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos y, si se desea, otra u otras sustancias terapéuticamente valiosas en una forma de administración galénica conjuntamente con uno o más portadores terapéuticamente inertes.

Tal como se ha indicado en mayor detalle anteriormente, la utilización de los compuestos de fórmulas IA y IB para la preparación de medicamentos útiles en la prevención y/o tratamiento de las enfermedades anteriormente indicadas también es un objetivo de la presente invención.

- 5 La dosis puede variar dentro de amplios límites y evidentemente se ajustará a los requisitos individuales en cada caso particular. En general, la dosis efectiva para la administración oral o parenteral es de entre 0,01 y 20 mg/kg/día, resultando preferente una dosis de entre 0,1 y 10 mg/kg/día para todas las indicaciones indicadas. De acuerdo con lo anteriormente expuesto, la dosis diaria para un adulto humano de 70 kg de peso se encuentra
- 10 comprendida entre 0,7 y 1.400 mg al día, preferentemente entre 7 y 700 mg al día.

Preparación de composiciones farmacéuticas que comprenden compuestos de la invención:

Se prepararon tabletas de la manera habitual con la composición siguiente:

Ingrediente	mg/tableta			
	5	25	100	500
Compuestos de fórmula IA o IB	5	25	100	500
Lactosa anhidra DTG	125	105	30	150
Sta-Rx 1500	6	6	6	60
Celulosa microcristalina	30	30	30	450
Estearato de magnesio	1	1	1	1
Total	167	167	167	831

Procedimiento de fabricación

- 15 1. Mezclar los ingredientes 1, 2, 3 y 4 y granular con agua purificada.
2. Secado de los gránulos a 50 °C.
3. Pasar los gránulos por equipos de molienda adecuados.
4. Añadir el ingrediente 5 y mezclar durante tres minutos; comprimir en una prensa adecuada.

Se prepararon cápsulas con la composición siguiente:

Ingrediente	mg/cápsula			
	5	25	100	500
Compuesto de fórmula IA o IB	5	25	100	500
Lactosa hidratada	159	123	148	-
Almidón de maíz	25	35	40	70
Talco	10	15	10	25
Estearato de magnesio	1	2	2	5
Total	200	200	300	600

Procedimiento de fabricación

1. Mezclar los ingredientes 1, 2 y 3 en un mezclador adecuado durante 30 minutos.
2. Añadir los ingredientes 4 y 5 mezclar durante 3 minutos.
- 5 3. Utilizar para rellenar cápsulas adecuadas.

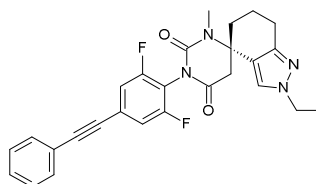
En primer lugar se mezcla un compuesto de fórmula IA o IB, y almidón de maíz en un mezclador y después en un aparato triturador. Se devuelve la mezcla al mezclador, se añade talco a la misma y se mezcla uniformemente. Se rellenan cápsulas adecuadas, por ejemplo cápsulas de gelatina dura, con la mezcla utilizando un aparato.

- 10 Se prepararon soluciones para inyección con la composición siguiente:

Ingrediente	mg/solución para inyección.
Compuesto de fórmula IA o IB	3
Polietilenglicol 400	150
ácido acético	c.s. para pH 5,0
agua para soluciones para inyección	hasta 1,0 ml

Procedimiento de fabricación

- Se disolvió un compuesto de fórmula IA o IB una mezcla de polietilenglicol-400 y agua para inyección (parte). Se ajustó el pH a 5,0 con ácido acético. El volumen se ajustó a 1,0 ml mediante la adición de la cantidad residual de agua. Se filtró la solución, se utilizó para
- 15 rellenar viales utilizando un exceso apropiado y se esterilizaron.

Sección experimental:**Ejemplo 1****(4S)-3'-[2,6-difluoro-4-(2-feniletinil)fenil]-2-etil-1'-metil-spiro[6,7-dihidro-5H-indazol-4,6'-hexahidropirimidín]-2',4'-diona**Etapas 1: 2-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-6,7-dihidro-2H-indazol-4(5H)-ona

Se disolvió 6,7-dihidro-2H-indazol-4(5H)-ona (CAS n° 912259-10-0) (1,46 g, 10,7 mmol) en THF (15 ml) y se enfrió hasta una temperatura de entre 0°C y 5°C. Se añadió cuidadosamente en porciones hidruro sódico (dispersión al 60% en aceite mineral) (450 mg, 11,3 mmol, 1,05 equiv.) y la mezcla se agitó durante 60 minutos a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se enfrió nuevamente hasta una temperatura de entre 0°C y 5°C y se añadió (2-(clorometoxi)etil)trimetilsilano (2,28 ml, 2,15 g, 12,9 mmol, 1,2 equiv.) y la mezcla se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se extrajo cuidadosamente con solución saturada de NaHCO₃ y dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas se lavaron con solución hipersalina, se secaron sobre sulfato sódico y se evaporaron a sequedad. La 2-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-6,7-dihidro-2H-indazol-4(5H)-ona deseada (rendimiento cuant.) se obtuvo en forma de un aceite amarillo, EM: m/e=267,2 (M+H⁺).

Etapas 2: (NE)-2-metil-N-[1-(2-trimetilsililetoximetil)-6,7-dihidro-5H-indazol-4-ilidén]propano-2-sulfinamida

Se disolvió 2-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-6,7-dihidro-2H-indazol-4(5H)-ona (Ejemplo 1, etapa 1) (40 g, 150,14 mmol) en 400 ml de THF. Se añadió (R)-2-metilpropano-2-sulfinamida (CAS n° 196929-78-9) (27,3 g, 225,2 mmol, 1,5 equiv.) y etóxido de titanio (IV) (102,75 g, 93,4 ml, 450,42 mmol, 3,0 equiv.) y la mezcla se agitó durante 4 horas a 70°C. La mezcla de reacción se enfrió y se añadió solución saturada de NaHCO₃ y acetato de etilo. La suspensión formada se filtró a través de Celite y el filtrado se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas se lavaron con solución hipersalina, se secaron sobre sulfato sódico y se evaporaron a sequedad. La (NE)-2-metil-N-[1-(2-

trimetilsililetoximetil)-6,7-dihidro-5H-indazol-4-ilidén]propano-2-sulfinamida (20,0 g, rendimiento de 36%) se obtuvo en forma de un aceite marrón, EM: m/e=370,2 (M+H⁺).

Etapas 3: 2-[(4S)-4-[(R)-terc-butilsulfinil]amino]-1-(2-trimetilsililetoximetil)-6,7-dihidro-5H-indazol-4-il]acetato de metilo

Se disolvió acetato de metilo (22,25 g, 23,9 ml, 300,3 mmoles, 3 equiv.) en 370 ml de THF seco y la solución se enfrió a -70 °C. Se añadió gota a gota LDA (2,0 M en THF/heptano/etilbenceno) (150 ml, 300,3 mmoles, 3 equiv.) a una temperatura de entre -75°C y -65°C y la mezcla se agitó durante 45 minutos a -70°C. Se añadió gota a gota triisopropóxido de clorotitanio (1,0 M en diclorometano) (400 ml, 400 mmoles, 4 equiv.) a una temperatura de entre -75°C y -65°C y la mezcla se agitó durante 45 minutos a -70°C. Se añadió gota a gota (NE)-2-metil-N-[1-(2-trimetilsililetoximetil)-6,7-dihidro-5H-indazol-4-ilidén]propano-2-sulfinamida (Ejemplo 1, etapa 2) (37 g, 100 mmoles) disuelto en 370 ml de THF seco, a una temperatura de entre -75°C y -65°C y la mezcla se agitó durante 1 hora a -70°C. Se añadió solución saturada de NaHCO₃ y la mezcla se agitó durante 10 minutos. Se añadió acetato de etilo a la suspensión formada y la mezcla se agitó durante 10 minutos. La suspensión formada se filtró a través de Celite y el filtrado se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas se lavaron con agua y solución hipersalina, se secaron sobre sulfato sódico y se evaporaron a sequedad. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía flash. El 2-[(4S)-4-[(R)-terc-butilsulfinil]amino]-1-(2-trimetilsililetoximetil)-6,7-dihidro-5H-indazol-4-il]acetato de metilo (22 g, rendimiento de 40%) se obtuvo en forma de un aceite marrón, EM: m/e=444,2 (M+H⁺).

Etapas 4: 2-[(4S)-4-amino-1-(2-trimetilsililetoximetil)-6,7-dihidro-5H-indazol-4-il]acetato de metilo

Se disolvió 2-[(4S)-4-[(R)-terc-butilsulfinil]amino]-1-(2-trimetilsililetoximetil)-6,7-dihidro-5H-indazol-4-il]acetato de metilo (Ejemplo 1, etapa 3) (20 g, 45,08 mmoles) en 500 ml de acetato de etilo y se añadió gota a gota HCl (4 N en acetato de etilo) (56,3 ml, 225,4 mmoles, 5 equiv.) a una temperatura de entre 0°C y 5°C. La mezcla se agitó durante 30 minutos a una temperatura de entre 0°C y 5°C. La mezcla de reacción se evaporó a una temperatura de entre 0°C y 5°C y se extrajo con solución saturada de NaHCO₃ y tres veces con diclorometano. Las capas orgánicas se agruparon, se secaron sobre sulfato sódico y se evaporaron a sequedad. El 2-[(4S)-4-amino-1-(2-trimetilsililetoximetil)-6,7-dihidro-5H-

indazol-4-il]acetato de metilo (340 mg, rendimiento de 54%) se obtuvo en forma de un aceite amarillo, EM: $m/e=340,1$ ($M+H^+$).

Etapas 5: 2-[(4S)-4-[(2,6-difluoro-4-yodo-fenil)carbamoilamino]-1-(2-

5 trimetilsililetoximetil)-6,7-dihidro-5H-indazol-4-il]acetato de metilo

Se disolvió 2,6-difluoro-4-yodoanilina (14,4 g, 56,56 mmoles, 1,2 equiv.) en DMF (250 ml) y se añadió CDI (9,17 g, 56,56 mmoles, 1,2 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó durante 1 hora a 100°C. A la mezcla se añadió 2-[(4S)-4-amino-1-(2-trimetilsililetoximetil)-6,7-dihidro-5H-indazol-4-il]acetato de metilo (Ejemplo 1, etapa 4) (16 g, 47,13 mmoles, 1,0 equiv.) disuelto en 20 ml de DMF a temperatura ambiente y la mezcla se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se vertió en agua y se extrajo tres veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas se lavaron con agua y solución hipersalina, se secaron sobre sulfato sódico y se evaporaron a sequedad. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía flash. El 2-[(4S)-4-[(2,6-difluoro-4-yodo-fenil)carbamoilamino]-1-(2-trimetilsililetoximetil)-6,7-dihidro-5H-indazol-4-il]acetato de metilo (9,1 g, rendimiento de 19%) se obtuvo en forma de una goma marrón, EM: $m/e=621,1$ ($M+H^+$).

Etapas 6: (4S)-3'-[2,6-difluoro-4-yodofenil)-1-(2-trimetilsililetoximetil)spiro[6,7-dihidro-

20 5H-indazol-4,6'-hexahidropirimidin]-2',4'-diona

(18 g, 29,01 mmoles) Se disolvió 2-[(4S)-4-[(2,6-difluoro-4-yodo-fenil)carbamoilamino]-1-(2-trimetilsililetoximetil)-6,7-dihidro-5H-indazol-4-il]acetato de metilo (Ejemplo 1, etapa 5) en THF (360 ml) y se añadió hidruro sódico (al 60% en aceite mineral) (1,74 g, 43,52 mmoles, 1,5 equiv.) a una temperatura de entre 0°C y 5°C. La mezcla se agitó durante 1 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se extrajo con solución saturada de NH_4Cl y tres veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas se lavaron con solución hipersalina, se secaron sobre sulfato sódico y se evaporaron a sequedad. La (4S)-3'-(2,6-difluoro-4-yodo-fenil)-1-(2-trimetilsililetoximetil)spiro[6,7-dihidro-5H-indazol-4,6'-hexahidropirimidín]-2',4'-diona (240 mg, rendimiento de 86%) se obtuvo en forma de una goma amarilla, EM: $m/e=589,0$ ($M+H^+$).

Etapas 7: (4S)-3'-(2,6-difluoro-4-yodofenil)-1'-metil-1-(2-trimetilsililetoximetil)spiro[6,7-dihidro-5H-indazol-4,6'-hexahidropirimidín]-2',4'-diona

(17 g, 28,9 mmoles) Se disolvió (4S)-3'-(2,6-difluoro-4-yodofenil)-1-(2-trimetilsililetoximetil)spiro[6,7-dihidro-5H-indazol-4,6'-hexaidropirimidín]-2',4'-diona (Ejemplo 1, etapa 6) en DMF (200 ml) y se añadió carbonato de cesio (14,12 g, 43,34 mmoles, 1,5 equiv.) y yodometano (4,92 g, 2,16 ml, 34,67 mmoles, 1,2 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se vertió en agua y se extrajo tres veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas se lavaron con agua y solución hipersalina, se secaron sobre sulfato sódico y se evaporaron a sequedad. Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía flash en una columna de gel de sílice eluyendo con un gradiente de petróleo:acetato de etilo 10:1 a 1:1. La (4S)-3'-(2,6-difluoro-4-yodo-fenil)-1'-metil-1-(2-trimetilsililetoximetil)spiro[6,7-dihidro-5H-indazol-4,6'-hexahidropirimidín]-2',4'-diona (15,7 g, rendimiento de 90%) se obtuvo en forma de una goma amarilla, EM: m/e=603,2 (M+H⁺).

Etapla 8: (4S)-3'-[2,6-difluoro-4-(2-feniletinil)fenil]-1'-metil-1-(2-trimetilsililetoximetil)spiro[6,7-dihidro-5H-indazol-4,6'-hexahidropirimidín]-2',4'-diona
Se disolvieron (4S)-3'-(2,6-difluoro-4-yodofenil)-1'-metil-1-(2-trimetilsililetoximetil)spiro[6,7-dihidro-5H-indazol-4,6'-hexahidropirimidín]-2',4'-diona (Ejemplo 1, etapa 7) (12 g, 19,9 mmoles) y fenilacetileno (3,05 g, 3,32 ml, 29,9 mmoles, 1,5 equiv.) en 120 ml de THF. Se añadieron trietilamina (10,1 g, 13,9 ml, 99,6 mmoles, 5 equiv.), dicloruro de bis-(trifenilfosfina)-paladio (II) (420 mg, 0,6 mmoles, 0,03 equiv.), trifenilfosfina (313 mg, 1,2 mmoles, 0,06 equiv.) y yoduro de cobre (I) (114 mg, 0,6 mmoles, 0,03 equiv.) y la mezcla se agitó durante 3 horas a 60°C. La mezcla de reacción se evaporó con Isolute®. Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía flash en una columna de gel de sílice eluyendo con un gradiente de acetato de etilo:heptano 30:70 a 100:0. La (4S)-3'-[2,6-difluoro-4-(2-feniletinil)fenil]-1'-metil-1-(2-trimetilsililetoximetil)spiro[6,7-dihidro-5H-indazol-4,6'-hexahidropirimidín]-2',4'-diona deseada (11,2 g, rendimiento de 98%) se obtuvo en forma de una espuma marrón, EM: m/e=577,3 (M+H⁺).

Etapla 9: (4S)-3'-[2,6-difluoro-4-(2-feniletinil)fenil]-1'-metil-spiro[1,5,6,7-tetrahidroindazol-4,6'-hexahidropirimidín]-2',4'-diona

Se obtuvo el compuesto del título en forma de una espuma blanca, EM: m/e=447,2 (M+H⁺) utilizando una reacción similar a la indicada en el Ejemplo 1, etapa 4, mediante la agitación de la reacción durante 2 horas a 80°C partiendo de (S)-1'-(2,6-difluoro-4-

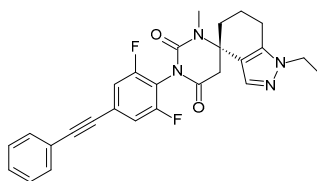
(feniletinil)fenil)-3'-metil-2-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-2,5,6,7-tetrahidro-1'H-spiro[indazol-4,4'-pirimidina]-2',6'(3'H,5'H)-diona (Ejemplo 1, etapa 8).

Etap 10: (4S)-3'-[2,6-difluoro-4-(2-feniletinil)fenil]-2-etil-1'-metil-spiro[6,7-dihidro-5H-indazol-4,6'-hexahidropirimidín]-2',4'-diona

Se obtuvo el compuesto del título en forma de un sólido blanco, EM: m/e=475,4 ($M+H^+$) utilizando una reacción similar a la indicada en el Ejemplo 1, etapa 7, partiendo de (4S)-3'-[2,6-difluoro-4-(2-feniletinil)fenil]-1'-metil-spiro[1,5,6,7-tetrahidroindazol-4,6'-hexahidropirimidín]-2',4'-diona (Ejemplo 1, etapa 9) y yodoetano. La (4S)-3'-[2,6-difluoro-4-(2-feniletinil)fenil]-2-etil-1'-metil-spiro[6,7-dihidro-5H-indazol-4,6'-hexahidropirimidín]-2',4'-diona deseada se obtuvo mediante separación de los dos isómeros formados utilizando una columna Reprosil Chiral NR® con una mezcla de heptano:etanol 60:40 como eluyente, recolectando el pico A.

Ejemplo 2

(4S)-3'-[2,6-Difluoro-4-(2-feniletinil)fenil]-1-etil-1'-metil-spiro[6,7-dihidro-5H-indazol-4,6'-hexahidropirimidín]-2',4'-diona



Se obtuvo el compuesto del título en forma de un sólido blanco, EM: m/e=475,4 ($M+H^+$) utilizando una reacción similar a la indicada en el Ejemplo 1, etapa 7, partiendo de (4S)-3'-[2,6-difluoro-4-(2-feniletinil)fenil]-1'-metil-spiro[1,5,6,7-tetrahidroindazol-4,6'-hexahidropirimidín]-2',4'-diona (Ejemplo 1, etapa 9) y yodoetano. La (4S)-3'-[2,6-difluoro-4-(2-feniletinil)fenil]-1-etil-1'-metil-spiro[6,7-dihidro-5H-indazol-4,6'-hexahidropirimidín]-2',4'-diona deseada se obtuvo mediante separación de los dos isómeros formados utilizando una columna Reprosil Chiral NR® con una mezcla de heptano:etanol 60:40 como eluyente, recolectando el pico B.