

MODULADORES DEL RECEPTOR ALFA RELACIONADO CON ESTRÓGENO (ERR α)

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

5 El receptor alfa relacionado con estrógeno (ERR α) es una proteína de 45,5 kilodaltons (kDa), 423
residuos de aminoácidos, que pertenece a la superfamilia del receptor nuclear (NR). Esta familia
de receptores nucleares comprende 48 genes, que codifican factores de transcripción que se
unen al ADN y que están involucrados en la regulación de diversas funciones, incluyendo, entre
10 NR3B– consta de ERR α , ERR– β y ERR– γ : hasta la fecha, no se han identificado ligandos
endógenos para ninguna de las isoformas de ERR y, por lo tanto, se consideran receptores
huérfanos.

En Bookout *et al.* *Anatomical profiling of nuclear receptor expression reveals a hierarchical*
transcriptional network [El perfil anatómico de la expresión del receptor nuclear revela una red
15 transcripcional jerárquica], *Cell*. 126:789–99 (2006), el perfil de expresión de todo el organismo
de las tres isoformas de ERR determinó que ERR α está ampliamente distribuido, con una
expresión proteica significativa en la mayoría de los tejidos adultos. Los estudios de Knockout de
los miembros de la familia ERR han revelado que cada receptor tiene fenotipos metabólicos
específicos de tejido y función que son importantes para la adaptación al estrés energético a nivel
20 de todo el cuerpo. Los estudios de Knockout también han indicado una compensación *in vivo*
limitada entre los miembros de la familia ERR. La divulgación de, entre otros, Tremblay *et al.*, *The*
NR3B subgroup: an overview [El subgrupo NR3B: una descripción general], *Nuclear receptor*
signaling, 5:e009 (2007), puede observarse en este contexto.

Los estudios genómicos han indicado que ERR α regula grandes cantidades de genes. Las
25 siguientes referencias son instructivas en este sentido: Puigserver *et al.* *A cold-inducible*
coactivator of nuclear receptors linked to adaptive thermogenesis, *Cell*. 92(6):829–839 (1998);
Yoon *et al.* *Control of hepatic gluconeogenesis through the transcriptional coactivator PGC–1*,
Nature 413(6852):131–138 (2001); Huss *et al.* *Estrogen-related receptor alpha directs*
peroxisome proliferator-activated receptor at signaling in the transcriptional control of energy
30 *metabolism in cardiac and skeletal muscle*, *Mol. Cell Biol.* 24(20):9079–9091 (2004); y Mootha *et*
al. *ERR α and Gabpa/b specify PGC–1alpha-dependent oxidative phosphorylation gene*
expression that is altered in diabetic muscle, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 101(17):6570–6575
(2004).

Estas referencias apoyan un modelo fisiológico de la función de ERR α en la regulación del metabolismo energético y, en particular, en la regulación transcripcional de los genes necesarios para la biogénesis mitocondrial, el ciclo del ácido tricarboxílico, la fosforilación oxidativa, la oxidación de ácidos grasos y el metabolismo de lípidos. En particular, ERR α induce la expresión del Factor Respiratorio Nuclear 1 (*NRF1*), la proteína alfa de unión a GA (*GABP α*) y el Receptor Alfa Activado por el Proliferador de Peroxisoma (*PPAR α*). Los coactivadores de receptores nucleares Receptor Activado por Proliferador de Peroxisoma coactivador gamma 1–alfa (PGC–1 α), PGC–1 β y Receptor Activado por Proliferador de Peroxisoma gamma proteína relacionada con el Coactivador 1 (PPRC–1) están implicados en la regulación de estos genes y en la autorregulación de la expresión de ERR α . PGC–1 α se expresa a niveles basales bajos, pero es inducido por el ayuno y otras tensiones metabólicas. PGC–1 β , un coactivador relacionado, tiene funciones similares, pero su expresión puede no ser regulada tan agudamente por las variaciones en la demanda de energía. Por el contrario, los correpresores que se unen a los ERR, como el correpresor nuclear de Proteína Interactiva del Receptor nuclear 140 (RIP140), compiten con los coactivadores de ERR para regular negativamente la expresión génica dependiente de ERR.

El efecto pleiotrópico de la actividad de ERR α en el metabolismo energético ha interesado a los presentes inventores en la posibilidad de que sea un objetivo para el descubrimiento de nuevas terapias para enfermedades en las que las alteraciones o modificaciones metabólicas juegan un papel central, como la diabetes tipo 2, la insuficiencia cardíaca progresiva, la osteoporosis y el cáncer. De particular interés es ERR α como nuevo objetivo para la terapia tumoral, a través de los efectos sobre la regulación del metabolismo energético de las células tumorales asociado con el estrés energético dentro de los microentornos tumorales. Y de interés específico es ERR α como nuevo objetivo para el tratamiento terapéutico de cánceres con propiedades similares a las de las células madre: células madre cancerosas (CSC), células iniciadoras de tumores (TIC) y células tumorales circulantes (CTC), que dependen de la respiración mitocondrial para sus requerimientos energéticos.

Se sabe que el inicio y el desarrollo del cáncer, en particular, están asociados con alteraciones metabólicas importantes, y las mitocondrias juegan un papel clave en la tumorigénesis. Una anomalía común observada en muchos tipos de cáncer –denominado efecto Warburg– es un cambio en el metabolismo de la glucosa, de la fosforilación oxidativa a la glucólisis aeróbica, y se caracteriza por un aumento drástico en el consumo de glucosa acompañado de una tasa elevada de excreción de lactato, independientemente de la abundancia de oxígeno: la glucólisis aeróbica satisface las necesidades metabólicas de las células altamente proliferativas, incluido el suministro de energía suficiente y la acumulación de precursores para las reacciones anabólicas.

LeBleu *et al.* *PGC-1 α mediates mitochondrial biogenesis and oxidative phosphorylation in cancer cells to promote metastasis*. Nat. Cell Biol. 16(10):992–1 (2014) demostraron que las células tumorales muestran plasticidad metabólica para comprometerse con la glucólisis o la fosforilación oxidativa dependiendo del entorno del tumor y su fenotipo proliferativo o metastásico durante la progresión del cáncer. Por lo tanto, es evidente que la focalización en los progenitores metastásicos y las células tumorales resistentes no solo debe ocurrir a través de la vía glucolítica sino también a través de la fosforilación oxidativa mitocondrial.

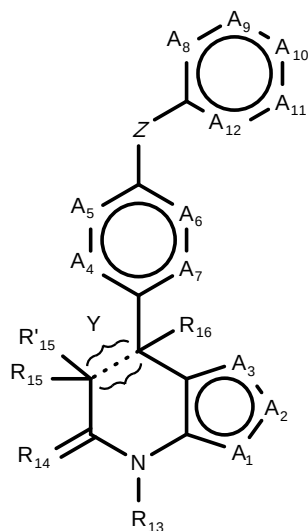
ERR α , junto con PGC1 α/β , controla la regulación de genes que codifican enzimas en el ciclo del ácido tricarboxílico (TCA) y la fosforilación oxidativa. Como se discutió en Ariazi *et al.* *Estrogen-related receptor alpha and estrogen-related receptor gamma associate with unfavorable and favorable biomarkers, respectively, in human breast cancer*, Cancer Res.62(22):6510–8 (2002), ERR α se expresa en un rango de células cancerosas, incluidas las células cancerosas de mama y próstata, y se asocia con una enfermedad más invasiva y un mayor riesgo de recurrencia en ambos tipos de cáncer.

Chang *et al.* *The metabolic regulator ERR α , a downstream target of HER2/IGF-1R, as a therapeutic target in breast cancer*, Cancer Cell 20, 500–510 (2011) y Fujimoto *et al.* *Clinical implication of estrogen-related receptor (ERR) expression in ovarian cancers*, J. Steroid Biochem. Mol. Biol. 104, 301–304 (2007) documentan que ERR α se expresa en la mayoría de los cánceres y que el aumento de la actividad de este receptor está asociado con un resultado negativo tanto en el cáncer de mama como en el de ovario. En la primera de estas referencias, se confirma que el factor de transcripción está involucrado en la biogénesis mitocondrial y también en la regulación de la fosforilación oxidativa. Este último punto se considera importante, ya que la resistencia a la inhibición de la vía de Kras en el cáncer de páncreas, los inhibidores de BRAF en el melanoma, y el oxaliplatino y el 5-fluorouracilo en el cáncer de colon también se asocian con un desplazamiento al metabolismo oxidativo.

Por lo tanto, los presentes inventores han opinado que la inhibición de la actividad de ERR α permitiría una alteración selectiva de la función mitocondrial en el cáncer, en particular en cánceres de los tipos mencionados anteriormente. Con este fin, pero igualmente para lograr utilidad en el tratamiento de otras enfermedades y afecciones mediadas por ERR α , han desarrollado agonistas inversos de ERR α no covalentes y no esteroideos.

SÍNTESIS DE LA INVENCION

De acuerdo con un primer aspecto de la presente invención, se proporciona un compuesto de acuerdo con la Fórmula I



(Fórmula I)

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

Z es $-\text{OCH}_2-$ o $-\text{CH}_2\text{O}-$;

5 Y es un enlace simple carbono-carbono o un enlace doble carbono-carbono, con la condición de que cuando Y es un enlace doble carbono-carbono, R'_{15} y R_{16} no están presentes;

una de las tres posiciones A_1-A_3 es S o NR_A , las dos posiciones restantes A_1-A_3 son N o CR_1 , CR_2 , CR_3 , respectivamente;

10 R_A es H o metilo;

R_1-R_3 son independientemente H, metilo o halógeno;

A_4-A_7 son N o CR_4 , CR_5 , CR_6 y CR_7 , respectivamente, con la condición de que no más de dos de las cuatro posiciones A_4-A_7 pueden ser simultáneamente N;

15 A_8-A_{12} son N o CR_8 , CR_9 , CR_{10} , CR_{11} y CR_{12} , respectivamente, con la condición de que no más de dos de las cinco posiciones A_8-A_{12} pueden ser simultáneamente N;

R_4-R_7 son independientemente H, halógeno, alquiloC(1-6), amino, (di)alquilaminoC(1-3), alcoxiC(1-3), alcoxiC(1-3)alcoxiC(1-3), $-\text{C}(\text{O})\text{OR}_{17}$, $-\text{C}(\text{O})\text{NR}_{17}\text{R}_{17}$ o nitro, con todos los grupos opcionalmente sustituidos con uno o más halógeno o hidroxilo;

20 R_8-R_{12} son independientemente H, halógeno, alcoxiC(1-3), alquiloC(1-6), ciano, cianoalquiloC(1-3), amino, nitro, aminoalquiloC(1-3), $-\text{C}(\text{O})\text{OR}_{15}$, $-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{OR}_{17}$, $-\text{C}(\text{O})\text{NR}_{17}\text{R}_{17}$, $-\text{NHC}(\text{O})\text{R}_{17}$, acetilo, hidroxilo, cicloalquiloC(3-6), alquinoC(2-3), alquenoC(2-3), carboxil alquiloC(1-3), alquilsulfoniloC(1-3), aminosulfonilo, (di)alquilaminoC(1-3), bencilo,

SF₅ o CH(=O), con todos los grupos opcionalmente sustituidos con uno o más halógeno o hidroxilo;

o R₉ y R₈ o R₁₀ se fusionan y forman un anillo aromático o no aromático de 5 a 7 miembros que contiene 2 a 7 átomos de carbono y 0 a 3 heteroátomos; con todos los grupos opcionalmente

5 sustituidos con uno o más metilo, halógeno o hidroxilo;

R₁₃ es H o metilo;

R₁₄ es NH, O o S;

R₁₅ y R'₁₅ son independientemente H, halógeno, alquiloC(1–4), ciano, ácido carboxílico, –C(O)OR₁₇, –C(O)NR₁₇R₁₇;

10 R₁₆ es H; y,

R₁₇ es H, alquiloC(1–4), aminoalquiloC(1–3), heteroariloC(1–5) o fenilo, con todos los grupos opcionalmente sustituidos con uno o más halógeno o hidroxilo.

En una forma de realización, la invención se refiere a un compuesto de acuerdo con la Fórmula I

15 en el cual A₁ es N, A₂ es NR_A y A₃ es CR₃.

En otra forma de realización, la invención se refiere a un compuesto de acuerdo con la Fórmula I en el cual A₁ es N, A₂ es NH y A₃ es CH.

20 En otra forma de realización, la invención se refiere a un compuesto de acuerdo con la Fórmula I en el cual las posiciones A₄, A₅, A₆ y A₇ son CR₄, CR₅, CR₆ y CR₇, respectivamente.

En otra forma de realización, la invención se refiere a un compuesto de acuerdo con la Fórmula I en el cual R₅ es alcoxiC(1–3) y R₄, R₆ y R₇ son H.

25 En otra forma de realización, la invención se refiere a un compuesto de acuerdo con la Fórmula I en el cual R₅ es metoxi y R₄, R₆ y R₇ son H.

En otra forma de realización, la invención se refiere a un compuesto de acuerdo con la Fórmula I

30 en el cual las posiciones A₈, A₉, A₁₀, A₁₁ y A₁₂ son CR₈, CR₉, CR₁₀, CR₁₁ y CR₁₂, respectivamente.

En otra forma de realización, la invención se refiere a un compuesto de acuerdo con la Fórmula I en el cual R₈–R₁₂ son independientemente H, alquiloC(1–6), halógeno, hidroxilo, NH₂, acetilo, alcoxiC(1–3) o SF₅.

En otra forma de realización, la invención se refiere a un compuesto de acuerdo con la Fórmula I en el cual R_8 – R_{12} son independientemente H, alquiloC(1–6) o halógeno.

- 5 En otra forma de realización, la invención se refiere a un compuesto de acuerdo con la Fórmula I en el cual R_8 y R_{10} son alquiloC(1–6) y R_9 , R_{11} y R_{12} son H.

En otra forma de realización, la invención se refiere a un compuesto de acuerdo con la Fórmula I en el cual R_8 y R_{10} son CF_3 y R_9 , R_{11} y R_{12} son H.

- 10 En otra forma de realización, la invención se refiere a un compuesto de acuerdo con la Fórmula I en el cual R_{13} es H.

- 15 En otra forma de realización, la invención se refiere a un compuesto de acuerdo con la Fórmula I en el cual R_{14} es O.

En otra forma de realización, la invención se refiere a un compuesto de acuerdo con la Fórmula I en el cual R_{15} y R'_{15} son H.

- 20 En otra forma de realización, la invención se refiere a un compuesto de acuerdo con la Fórmula I en el cual Z es $-CH_2O-$, estando el CH_2 conectado al anillo aromático que contiene A_4 – A_7 .

En otra forma de realización, la invención se refiere a un compuesto de acuerdo con la Fórmula I en el cual Y es un enlace simple carbono–carbono.

- 25 Las formas de realización anteriores, cuando se refieren a un término preferido de diferentes sustituyentes de Fórmula (I), no son mutuamente excluyentes. En cambio, todas las combinaciones de estas formas de realización están comprendidas dentro del alcance de la presente invención y, en ciertas circunstancias, dichas combinaciones representan estructuras preferidas para compuestos de Fórmula I. En tal sentido, se puede hacer particular mención de
- 30 los compuestos de acuerdo con la Fórmula I en la cual: R_{14} es O; Z es $-CH_2O-$, estando el CH_2 del mismo conectado con el anillo aromático que contiene A_4 – A_7 ; y, Y es un enlace simple carbono–carbono. Y además se puede hacer mención de compuestos de acuerdo con la Fórmula I en la cual: R_8 y R_{10} son CF_3 y R_9 , R_{11} y R_{12} son H; R_{13} es H; R_{14} es O; Z es $-CH_2O-$, estando el

CH₂ conectado con el anillo aromático que contiene A₄–A₇; y, Y es un enlace simple carbono–carbono.

DEFINICIONES

- 5 Tal como se usa en este documento, las formas singulares "un", "una", "el" y "la" incluyen referentes plurales, a menos que el contexto indique claramente lo contrario.

Los términos "que comprende(n)", "comprende" y "compuesto de", tal como se usan en el presente documento, son sinónimos de "que incluye(n)", "incluye", "que contiene(n)" o "contiene",
10 y son inclusivos o abiertos y no excluyen miembros, elementos o pasos de métodos adicionales no mencionados. Si se usa, la frase "que consiste(n) en" es cerrada y excluye todos los elementos adicionales. Además, la frase "que consiste(n) esencialmente en" excluye elementos materiales adicionales pero permite la inclusión de elementos no materiales que no cambian sustancialmente la naturaleza de la invención.

15 Cuando las cantidades, concentraciones, dimensiones y otros parámetros se expresan en forma de un rango, un rango preferible, un valor límite superior, un valor límite inferior, o valores límite superiores preferibles, debe entenderse que cualquier rango obtenible combinando cualquier valor límite superior o preferible con cualquier límite inferior o preferible también se describen
20 específicamente, independientemente de si los rangos obtenidos se mencionan claramente en el contexto.

Las palabras "preferido", "preferiblemente", "deseablemente" y "particularmente" o sinónimos de las mismas pueden usarse frecuentemente en el presente documento para referirse a formas de
25 realización de la divulgación que pueden proporcionar beneficios particulares, bajo ciertas circunstancias. Sin embargo, la mención de una o más formas de realización preferibles, preferidas, deseables o particulares no implica que otras formas de realización no sean útiles y no pretende excluir esas otras formas de realización del alcance de la divulgación.

30 Tal como se usa en esta solicitud, la palabra "puede" se usa en un sentido permisivo, es decir, con el potencial para hacerlo, en lugar de en sentido obligatorio.

Tal como se usa en este documento, "temperatura ambiente" es 23 °C ± 2 °C.

A menos que se indique lo contrario, los términos "halo" o "halógeno" o "haluro", tal como se usan en este documento por sí mismos o como parte de otro sustituyente, significan un átomo de flúor, cloro, bromo o yodo. Se observa una preferencia por flúor, cloro o bromo.

5

El término "heteroátomo", tal como se usa en el presente documento, representa nitrógeno, oxígeno o azufre.

10 El uso del término "radical" en el presente documento es coherente con la definición de dicha entidad molecular en *IUPAC. Compendium of Chemical Terminology, 2nd ed. (the "Gold Book"). Compiled by A. D. McNaught and A. Wilkinson, Blackwell Scientific Publications, Oxford (1997).*

15 Tal como se usa en el presente documento, el grupo "alquiloC(1–n)" se refiere a un grupo monovalente que contiene de 1 a n átomos de carbono, es decir, un radical de un alcano e incluye grupos orgánicos de cadena recta y ramificada. Como tal, un grupo "alquilo C₁–C₃₀" se referiría a un grupo monovalente que contiene de 1 a 30 átomos de carbono, es decir, un radical de un alcano e incluye grupos orgánicos de cadena recta y ramificada. En la presente invención, tales grupos alquilo pueden estar no sustituidos o pueden estar sustituidos con los grupos mencionados a continuación. Los derivados halogenados de radicales hidrocarburos podrían, en particular, 20 mencionarse como ejemplos de grupos alquilo sustituidos adecuados.

25 El término "alquiloC(1–6)", tal como se usa en el presente documento, significa un grupo alquilo ramificado o no ramificado que tiene 1–6 átomos de carbono, por ejemplo, metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, ter–butilo, n–pentilo y n–hexilo. Todos los átomos de carbono pueden sustituirse opcionalmente con uno o más halógeno o hidroxilo.

30 El término "alquiloC(1–4)", tal como se usa en el presente documento, significa un grupo alquilo que tiene 1–4 átomos de carbono, es decir, metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec–butilo o ter–butilo. Todos los átomos de carbono pueden sustituirse opcionalmente con uno o más halógeno o hidroxilo.

El término "alquiloC(1–3)", tal como se usa en el presente documento, significa un grupo alquilo que tiene 1–3 átomos de carbono, es decir, metilo, etilo, propilo o isopropilo. Todos los átomos de carbono pueden sustituirse opcionalmente con uno o más halógeno o hidroxilo.

El término "alquiloC(1–2)", tal como se usa en el presente documento, significa un grupo alquilo que tiene 1–2 átomos de carbono, es decir, metilo o etilo. Todos los átomos de carbono pueden sustituirse opcionalmente con uno o más halógeno o hidroxilo.

5

El término "alquiloC(3–6)", tal como se usa en el presente documento, significa un hidrocarburo cíclico saturado que tiene 3–6 átomos de carbono, es decir, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo o ciclohexilo. Todos los átomos de carbono pueden sustituirse opcionalmente con uno o más halógeno o metilo.

10

El término "alquiniloC(2–3)", tal como se usa en el presente documento, significa un grupo alquinilo que tiene 2–3 átomos de carbono, es decir, etinilo, 1–propinilo o 2–propinilo. Todos los átomos de carbono pueden sustituirse opcionalmente con uno o más hidroxilo.

15 El término "alqueniloC(2–3)", tal como se usa en el presente documento, significa un grupo alquenilo que tiene 2–3 átomos de carbono, es decir, eteno, 1–propeno o 2–propeno.

El término "alcoxiC(1–3)" significa un grupo alcoxi que tiene 1–3 átomos de carbono, donde el resto alquilo está ramificado o no ramificado. Todos los átomos de carbono están opcionalmente sustituidos con uno o más F o hidroxilo.

20

El término "alcoxiC(1–3)alcoxiC(1–3)" significa un alcoxiC(1–3) unido a un alquiloC(1–3), ambos con el mismo significado que se definió previamente.

25 El término "alcoxiC(1–3)alcoxiC(1–3)", tal como se usa en el presente significa un alcoxiC(1–3) unido a un alcoxiC(1–3), donde el término alcoxiC(1–3) tiene el mismo significado que el definido previamente.

30 El término "heteroariloC(1–5)", tal como se usa en el presente documento, significa un grupo aromático que tiene 1–5 átomos de carbono y 1–4 heteroátomos, que puede estar unido a través de un átomo de nitrógeno si es posible, o un átomo de carbono. Los ejemplos incluyen pirrolilo, pirazolilo, imidazolilo, isoxazolilo, furilo, tiofenilo, tiazolilo, isotiazolilo, triazolilo, tetrazolilo, oxazolilo, piridinilo, pirimidilo, pirazinilo y triazinilo. Todos los átomos de carbono pueden sustituirse opcionalmente con uno o más halógeno o metilo.

El término "ciano", tal como se usa en el presente documento, representa un grupo de fórmula –CN.

- 5 El término "cianoalquiloC(1–3)" significa un grupo ciano unido a un grupo alquiloC(1–3) en cualquier posición, donde los términos "ciano" y "alquiloC(1–3)" tienen el mismo significado que se definió previamente.

Tal como se usa en el presente documento, "grupo nitro" o "nitro" se refiere a –NO_2 .

- 10 Tal como se usa en el presente documento, el término "grupo amino" se refiere a un sustituyente de la fórmula –NH_2 . El término abarca la forma protonada del mismo (–NH_3^+).

- 15 El término "aminoalquiloC(1–3)" significa un grupo amino unido a un grupo alquiloC(1–3) en cualquier posición, donde dicho resto "alquiloC(1–3)" tiene el mismo significado que se definió previamente.

- 20 El término "(di)alquilaminoC(1–3)", tal como se usa en el presente documento, significa un grupo amino, que está monosustituido o disustituido independientemente con grupo(s) alquiloC(1–3), que tienen el mismo significado que se definió previamente.

El término "alquilsulfoniloC(1–3)" denota el grupo $\text{–S(O)}_2\text{R}$ en el cual R es un grupo alquiloC(1–3), donde el término "alquiloC(1–3)" tiene el mismo significado que se definió previamente.

- 25 El término "aminosulfonilo" denota el grupo $\text{–S(O)}_2\text{–NH}_2$ en donde un grupo amino está unido a un resto sulfonilo.

El término "carboxilalquiloC(1–3)" denota el grupo –C(O)OH unido a un alquiloC(1–3). El término "alquiloC(1–3)" tiene el mismo significado que se definió previamente.

- 30 El término "sustituido" significa que uno o más hidrógenos en los átomos designados son reemplazados por una selección del grupo indicado, siempre que: la valencia normal del átomo designado en las circunstancias existentes no se exceda; y la sustitución dé como resultado un compuesto estable. Las combinaciones de sustituyentes también están permitidas solo si tales

combinaciones dan como resultado compuestos estables. Los términos "compuesto estable" o "estructura estable" se refieren a un compuesto o estructura que es suficientemente robusta para sobrevivir tanto al aislamiento hasta un grado útil de pureza a partir de una mezcla de reacción como la formulación en un agente terapéutico eficaz.

5

El término "opcionalmente sustituido" significa la sustitución opcional con los grupos, radicales o restos especificados.

10 Tal como se usa en el presente documento, "grupo protector" se refiere a un resto unido a un grupo funcional para evitar una reacción no deseada. Preferiblemente, el grupo protector se puede eliminar fácilmente después de que ya no se requiera la protección del grupo funcional.

15 Los compuestos de Fórmula I pueden formar sales, que también están dentro del alcance de esta invención. La referencia a un compuesto de Fórmula I en este documento se entiende que incluye referencias a sales de los mismos, a menos que se indique lo contrario.

20 El término "sal farmacéuticamente aceptable" se usa de acuerdo con su definición estándar en la técnica para representar aquellas sales que, dentro del alcance del juicio médico, son adecuadas para usar en contacto con los tejidos de humanos y animales inferiores, en particular sin indebida toxicidad, irritación y/o respuesta alérgica: ese uso debe ser acorde con una relación riesgo–beneficio razonable. Las sales farmacéuticamente aceptables son bien conocidas en la técnica. Pueden obtenerse durante el aislamiento final y la purificación de los compuestos de la invención, o pueden obtenerse por separado haciendo reaccionar una función de base libre con: un ácido mineral adecuado, que incluye, pero sin limitaciones, ácido clorhídrico, ácido fosfórico o ácido sulfúrico; o un ácido orgánico, que incluye, pero sin limitaciones, ácido ascórbico, ácido cítrico, ácido tartárico, ácido láctico, ácido maleico, ácido malónico, ácido fumárico, ácido glicólico, ácido succínico, ácido propiónico, ácido acético o ácido metansulfónico. Una función ácida de los compuestos de la invención puede hacerse reaccionar con una base mineral, como hidróxido de sodio, hidróxido de potasio o hidróxido de litio, o con una base orgánica. Para completar, las bases orgánicas incluyen las sales de amina hidrocarbilo y heterocíclicas comunes, tales como las sales de dietilamino, morfolina y piperidina, por ejemplo.

25

30

Los compuestos de Fórmula I pueden contener centros asimétricos o quirales y, por lo tanto, existen en diferentes formas estereoisoméricas. Se pretende que todas las formas

estereoisoméricas de los compuestos de Fórmula I, así como sus mezclas, incluidas las mezclas racémicas, formen parte de la presente invención. En particular, las formas estereoisoméricas de los compuestos de Fórmula I que, siguiendo el sistema de nomenclatura de Cahn–Ingold–Prelog, están en la configuración S en el centro quiral al lado del anillo pirazol definitivamente forman parte de la presente invención.

Como el experto en la materia entenderá, los enantiómeros se pueden separar: convirtiendo la mezcla enantiomérica en una mezcla diastereomérica por reacción con un compuesto ópticamente activo apropiado, por ejemplo un auxiliar quiral, tal como un alcohol quiral o cloruro de ácido de Mosher; separando los diastereómeros; y convirtiendo –por hidrólisis, por ejemplo– los diastereómeros individuales en los enantiómeros puros correspondientes. Los enantiómeros también se pueden separar mediante el uso de una columna de HPLC quiral.

Se reconocerá además que pueden ser posibles diversos tautómeros de los compuestos de Fórmula I: por lo tanto, se pretende que todas las formas tautoméricas de los compuestos de Fórmula I formen parte de la invención. Para completar, tal como se usa en el presente documento, el término "tautómero" se refiere a la migración de protones entre enlaces simples y dobles adyacentes. El proceso de tautomerización es reversible: los tautómeros generalmente alcanzarán un estado de equilibrio en el que el doble enlace se comparte resonantemente entre dos longitudes de enlace.

La presente invención también se refiere a una composición farmacéutica que comprende compuestos o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos que tienen la Fórmula general I en mezcla con excipientes farmacéuticamente aceptables y opcionalmente otros agentes terapéuticamente activos. Los excipientes deben ser "aceptables" en el sentido de ser compatibles con los otros ingredientes de la composición y no perjudiciales para los destinatarios de los mismos.

La invención incluye además un compuesto de Fórmula I en combinación con una o más drogas adicionales.

Las composiciones incluyen, pero sin limitaciones, aquellas adecuadas para administración oral, sublingual, subcutánea, intravenosa, intramuscular, nasal, local o rectal, todas en formas de dosificación unitarias para su administración. Para la administración oral, el ingrediente activo

puede presentarse como unidades discretas, tales como comprimidos, cápsulas, polvos, granulados, soluciones, suspensiones y similares.

Para la administración parenteral, la composición farmacéutica de la invención puede presentarse en envases de dosis unitarias o multidosis, tales como líquidos para inyección en cantidades predeterminadas, presentados, por ejemplo, en viales sellados y ampollas. La composición farmacéutica también puede almacenarse en condición liofilizada que requiere solo la adición de un vehículo líquido estéril –como agua– antes de su uso.

Mezclado con tales auxiliares farmacéuticamente aceptables, el agente activo puede comprimirse en unidades de dosificación sólidas, como píldoras, comprimidos, o procesarse en cápsulas o supositorios. Por medio de líquidos farmacéuticamente aceptables, el agente activo puede aplicarse como composición fluida, en forma de solución, suspensión o emulsión, por ejemplo, que puede incluirse en una preparación para inyección o en un aerosol, tal como un aerosol nasal.

Para fabricar unidades de dosificación sólidas, se contempla el uso de aditivos convencionales, tales como rellenos, colorantes, aglutinantes poliméricos y similares. En general, se puede usar cualquier aditivo farmacéuticamente aceptable que no interfiera con la función de los compuestos activos. Los vehículos adecuados con los que el agente activo de la invención se puede administrar como composiciones sólidas incluyen lactosa, almidón, derivados de celulosa y similares, o mezclas de los mismos, cuando se usan en cantidades adecuadas. Para la administración parenteral, pueden usarse suspensiones acuosas, soluciones salinas isotónicas y soluciones inyectables estériles, donde las suspensiones o soluciones pueden contener agentes dispersantes y/o agentes humectantes farmacéuticamente aceptables, tales como propilenglicol o butilenglicol.

La invención incluye además una composición farmacéutica, tal como se describe anteriormente en este documento, en combinación con material de envasado adecuado para dicha composición, donde dicho material de envasado incluye instrucciones para el uso de la composición a los fines descritos anteriormente en el presente documento.

La dosis exacta y el régimen de administración del ingrediente activo, o una composición farmacéutica del mismo, pueden variar con el compuesto particular, la vía de administración, y la edad y el estado del sujeto individual al que se le administrará el medicamento.

En general, la administración parenteral requiere dosis más bajas que otros métodos de administración que dependen más de la absorción. Aparte de eso, una dosis para humanos contiene preferiblemente de 0,0001 a 100 mg por kg de peso corporal. La dosis deseada puede presentarse como una dosis o como varias subdosis administradas a intervalos apropiados durante el día.

El compuesto de acuerdo con la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, puede usarse como medicamento en terapia.

Otro aspecto de la invención reside en el uso de compuestos que tienen la Fórmula general I, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, para el tratamiento terapéutico y/o profiláctico de enfermedades mediadas por $ERR\alpha$ o afecciones mediadas por $ERR\alpha$. En particular, la invención prevé el uso de compuestos que tienen la Fórmula general I, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, para el tratamiento del cáncer mediado por $ERR\alpha$.

Los compuestos que tienen la Fórmula general I, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, pueden usarse en terapias para tratar al menos una afección seleccionada de: cáncer de pulmón; melanoma; cáncer endometrial; y leucemia mieloide aguda. Sin intención de limitar este aspecto de la presente invención, los compuestos que tienen la Fórmula general I, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, pueden usarse en particular en terapias para tratar: melanoma de propagación superficial; lentigo maligno; melanoma acral lentiginoso; melanoma nodular; melanoma amelanótico; melanoma ocular; melanoma de la vulva; o melanoma vaginal.

En otro aspecto, los compuestos que tienen la Fórmula general I, o una sal farmacéuticamente aceptable, se pueden usar en terapias para tratar al menos una afección seleccionada de: cáncer de mama; cáncer de vejiga; cáncer de próstata; cáncer de páncreas; cáncer colorrectal; y cáncer de ovario.

En otro aspecto, los compuestos que tienen la Fórmula general I, o una sal farmacéuticamente aceptable, pueden usarse para tratar la diabetes mellitus Tipo II.

Aquí también se proporciona un método para tratar al menos una afección seleccionada de: cáncer de pulmón; melanoma; cáncer endometrial; y leucemia mieloide aguda, donde dicho

método comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de acuerdo con la Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 5 También se proporciona un método para tratar al menos una afección seleccionada de: melanoma de propagación superficial; lentigo maligno; melanoma acral lentiginoso; melanoma nodular; melanoma amelanótico; melanoma ocular; melanoma de la vulva; y melanoma vaginal, donde dicho método comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de acuerdo con la Fórmula I o una sal
10 farmacéuticamente aceptable del mismo.

- También se proporciona un método para tratar al menos una afección seleccionada de: cáncer de mama; cáncer de vejiga; cáncer de próstata; cáncer de páncreas; cáncer colorrectal; y cáncer de ovario, donde dicho método comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad
15 terapéuticamente efectiva de un compuesto de acuerdo con la Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- También se proporciona un método para tratar la diabetes mellitus Tipo II, donde dicho método comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad terapéuticamente efectiva de
20 un compuesto de acuerdo con la Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- La frase "cantidad terapéuticamente efectiva", tal como se usa en el presente documento, significa la cantidad del compuesto o composición en cuestión que es efectiva para producir el efecto terapéutico deseado.

25

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

- Como se representa en los Ejemplos a continuación, en ciertas formas de realización ejemplares, los compuestos se preparan de acuerdo con los siguientes procedimientos generales. Se
30 apreciará que, si bien los métodos generales representan la síntesis de ciertos compuestos de la invención, los siguientes métodos generales y otros métodos conocidos por el experto en la técnica, pueden aplicarse a todos los compuestos y las subclases y especies de cada uno de estos compuestos, como se describe en este documento.

MÉTODOS GENERALES DE PREPARACIÓN

Los compuestos descritos aquí, incluidos los compuestos de Fórmula general I, Bloque de Construcción I y Bloque de Construcción II, se preparan mediante los esquemas de reacción que se muestran a continuación. Además, en los siguientes esquemas, donde se mencionan ácidos, bases, reactivos, agentes de acoplamiento, catalizadores, solventes y similares específicos, se entiende que se pueden usar otros ácidos, bases, reactivos, agentes de acoplamiento, catalizadores, solventes, etc. adecuados, y están incluidos dentro del alcance de la presente invención. Las modificaciones a las condiciones de reacción, por ejemplo, temperatura, duración de la reacción o combinaciones de las mismas, se contemplan como parte de la presente invención.

Los compuestos obtenidos mediante el uso de las secuencias de reacción generales pueden ser de pureza insuficiente. Los compuestos pueden purificarse usando cualquiera de los métodos para la purificación de compuestos orgánicos, por ejemplo, cristalización o cromatografía en columna de gel de sílice o alúmina usando diferentes solventes en proporciones adecuadas. Todos los estereoisómeros posibles están previstos dentro del alcance de la invención.

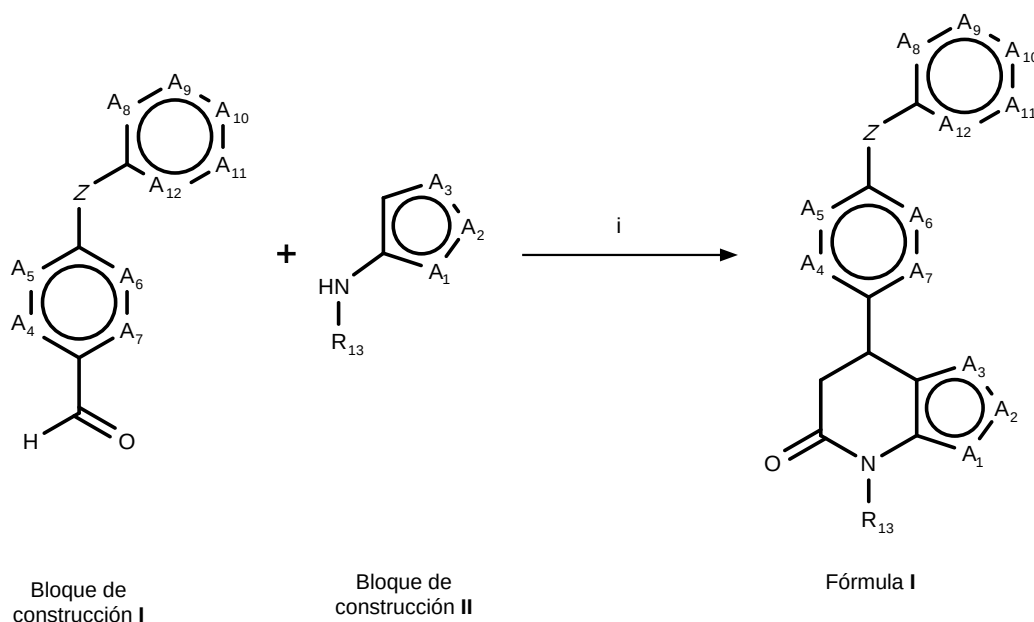
Las abreviaturas para los materiales empleados en los Esquemas de Reacción y los Ejemplos son los siguientes:

AcOH: ácido acético; **ACN**: acetonitrilo; **AIBN**: Azobisisobutironitrilo; **BH₃•THF**: Borano-tetrahidrofurano **Boc₂O**: Dicarbonato de di-*ter*-butilo; **DAST**: Trifluoruro de (dietilamino)azufre; **DBU**: 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno; **DCM**: diclorometano; **DDQ**: 2,3-Dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona; **DIAD**: Azodicarboxilato de diisopropilo; **DiBAI-H**: Hidruro de diisobutilaluminio; **DMAP**: 4-dimetilaminopiridina; **DMF**: *N,N*-dimetilformamida; **EDC**: 1-Etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida; **Et₂O**: éter di-etílico; **EtOAc**: acetato de etilo; **HATU**: 1-[Bis(dimetilamino)metilen]-1*H*-1,2,3-triazolo[4,5-*b*]piridinio 3-óxido hexafluorofosfato; **HOBt**: Hidroxibenzotriazol; **KOAc**: acetato de potasio; **MeMgBr**: bromuro de metilmagnesio; **MeOH**: Metanol; **Me₂S•BH₃**: Dimetilsulfuro de borano; **NBS**: *N*-bromosuccinimida; **NMO**: 4-metilmorfolina *N*-óxido; **PdCl₂(PPh₃)₂**: Dicloruro de bis(trifenilfosfino)paladio(II); **Pd(dppf)Cl₂**: [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio(II); **Pd(PPh₃)₄**: Tetrakis(trifenilfosfino)paladio(0); **PhSCu(I)**: fenilsulfanilcobre; **PPh₃**: Trifenilfosfina; **p-TsOH**: ácido paratoluensulfónico; ***t*BuOK**: *ter*-butóxido de potasio; ***t*BuONO**: Nitrito de *ter*-butilo; **TEA**: trietilamina; **TEMPO**: 2,2,6,6-

tetrametilpiperidiniloxilo; **THF**: tetrahidrofurano; **TMS-Cl**: cloruro de trimetilsililo; **TOSMIC**: Tosilmetilisocianuro.

Los nombres químicos son nombres preferidos de IUPAC, generados usando Marvin Sketch 17.24.1. Si se hace referencia a un compuesto químico utilizando una estructura química y un nombre químico, y existe ambigüedad entre la estructura y el nombre, predomina la estructura.

Esquema 1



Condiciones: i) Ácido de Meldrum, MeOH

- 10 Como se muestra en el Esquema 1, los derivados de la invención que tienen la Fórmula I, en donde R_{14} es oxígeno, cada uno de R_{15} , R'_{15} y R_{16} es H e Y es un enlace simple carbono-carbono, se pueden preparar mediante métodos conocidos en el arte de la química orgánica. Los compuestos de la invención se pueden obtener mediante una reacción entre un derivado del bloque de construcción I, en donde Z, A_4 , A_5 , A_6 , A_7 , A_8 , A_9 , A_{10} , A_{11} y A_{12} tienen el significado descrito previamente, un derivado del bloque de construcción II, en donde R_{13} , A_1 , A_2 y A_3 tienen el significado descrito previamente, y ácido de Meldrum.
- 15

Para obtener derivados de Fórmula I en donde R_{14} es azufre, los derivados de Fórmula I en donde R_{14} es oxígeno se pueden hacer reaccionar con, por ejemplo, reactivo de Lawesson.

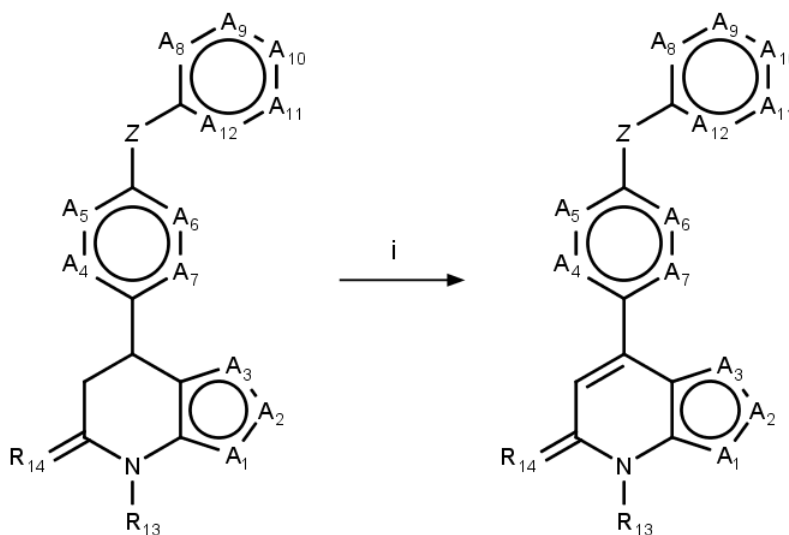
Para obtener derivados de Fórmula I en donde R₁₄ es nitrógeno, los derivados de Fórmula I en donde R₁₄ es azufre se pueden hacer reaccionar con, por ejemplo, amoníaco en MeOH.

Si el Bloque de Construcción I contiene un resto amina o aldehído en R₄–R₁₂, este resto debe protegerse con un grupo protector adecuado antes de la reacción con el derivado del bloque de construcción II y ácido de Meldrum, y debe desprotegerse luego, usando métodos bien conocidos, para obtener el análogo de Fórmula I deseado. A través de esta vía, se pueden obtener aminas que pueden derivarse adicionalmente, usando métodos bien conocidos, a fin de proporcionar aminas o amidas secundarias o terciarias.

Si uno de R₄–R₇ en un análogo de Fórmula I es nitro, el nitro se puede reducir usando, por ejemplo, hierro y cloruro de amonio en una mezcla de agua/THF/MeOH, para obtener un análogo de Fórmula I que contiene una amina en R₄–R₇.

Si uno de R₄–R₇ en un análogo de Fórmula I es un éster metílico, este éster se puede saponificar en condiciones básicas para obtener el correspondiente ácido carboxílico. Cuando este ácido se hace reaccionar con alcoholes y aminas, usando métodos conocidos en el arte, se pueden formar ésteres y amidas.

Esquema 1b

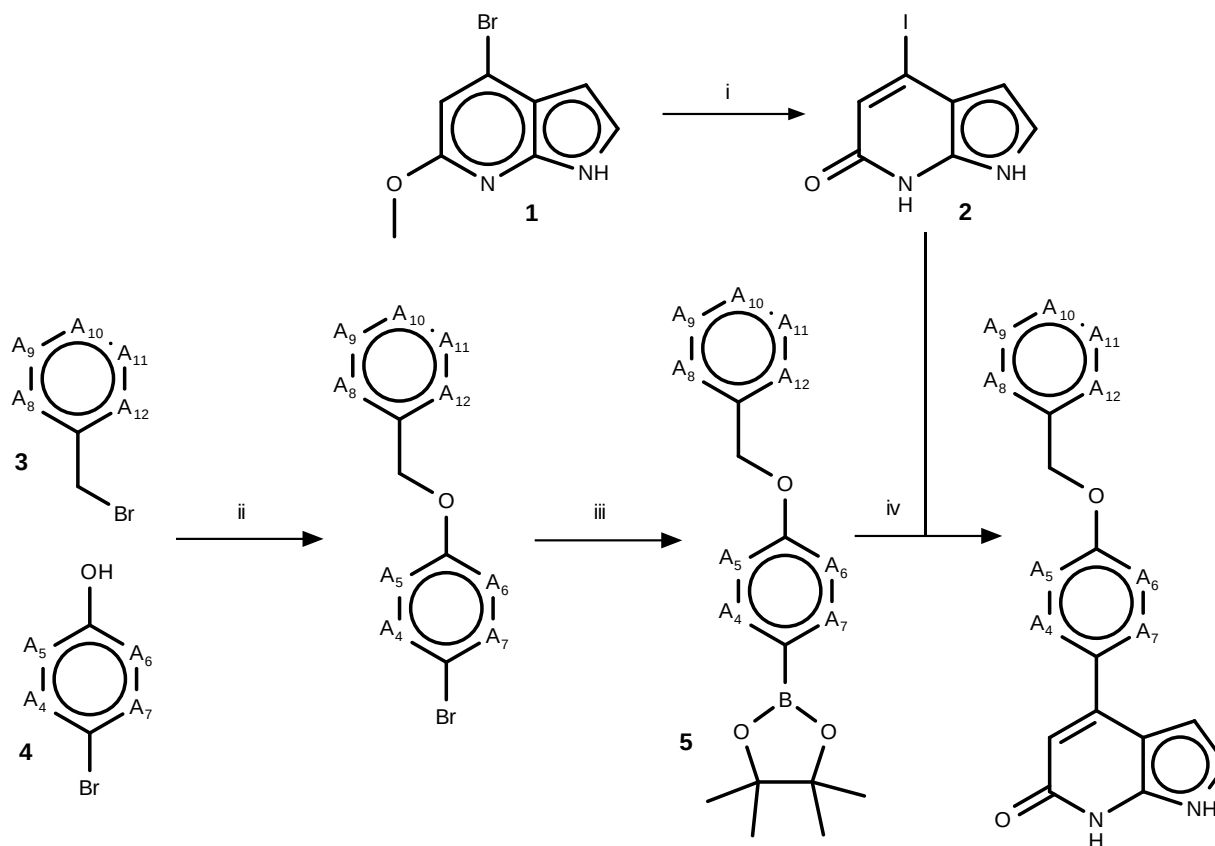


Condiciones: i) DDQ, 1,4-dioxano

El Esquema 1b ilustra una vía general para la preparación de análogos de Fórmula I en donde Y es un enlace doble carbono-carbono, R₁₅ es H y Z, R₁₃, R₁₄, A₁, A₂, A₃, A₄, A₅, A₆, A₇, A₈, A₉, A₁₀, A₁₁ y A₁₂ tienen el significado descrito previamente.

Los derivados de Fórmula I, en donde Y es un enlace simple carbono-carbono, se pueden oxidar, usando, por ejemplo, DDQ en un solvente apropiado, para obtener derivados de Fórmula I, en donde Y es un enlace doble carbono-carbono.

Esquema 1c



Condiciones: i) TMS-Cl, KI, ACN;

ii) K₂CO₃, ACN;

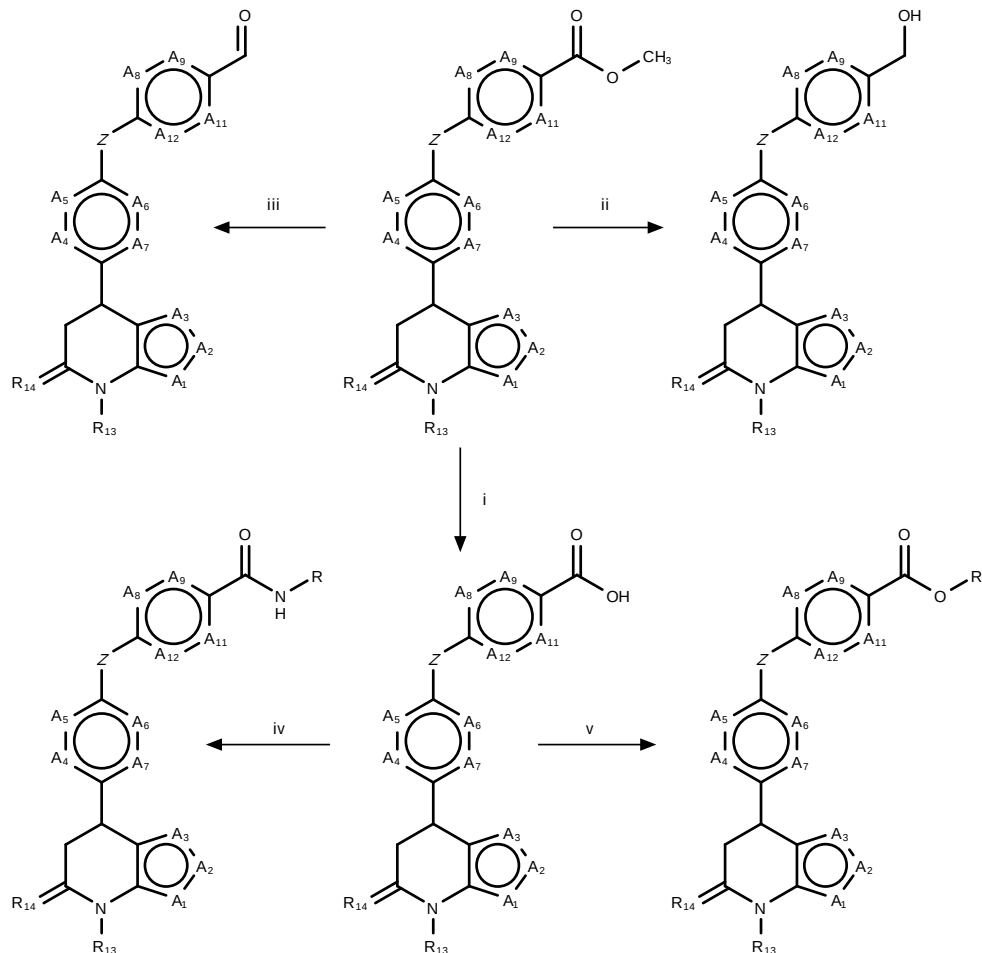
5 iii) bis(pinacolato)diboro, Pd(DPPF)Cl₂•DCM, KOAc, 1,4-dioxano; y,

iv) Pd(PPh₃)₄, K₂CO₃, 1,4-dioxano/agua.

El Esquema **1c** muestra una manera alternativa para preparar análogos de Fórmula I en donde Y es un enlace doble carbono-carbono, Z es -OCH₂, A₁ es NH, A₂ y A₃ son CH, R₁₃ y R₁₅ son H, y R₁₄=O. A₄, A₅, A₆, A₇, A₈, A₉, A₁₀, A₁₁ y A₁₂ tienen el significado descrito previamente. La bromopirrollopiridina **1** se puede desmetilar usando, por ejemplo, TMS-Cl y KI en ACN. Cuando se aplican estas condiciones, el bromo es sustituido por un yodo para proporcionar iodopirrollopiridina **2**. El bloque de construcción de éster borónico **5** se obtuvo a través del acoplamiento de bencilbromuro **3** con fenol **4**, usando, por ejemplo, K₂CO₃, seguido por la introducción del éster borónico usando, por ejemplo, bis(pinacolato)diboro, Pd(dppf)Cl₂•DCM y KOAc en 1,4-dioxano. Cuando los bloques de construcción **2** y **5** se acoplaron a través de una

reacción catalizada con paladio, usando, por ejemplo, $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ y K_2CO_3 en 1,4-dioxano/agua, se obtuvieron los correspondientes análogos de Fórmula I.

Esquema 1d



Condiciones: i) LiOH, THF/agua;

ii) LiOH, THF/agua seguido por $\text{Me}_2\text{S}\cdot\text{BH}_3$, THF;

iii) DiBAL-H, THF;

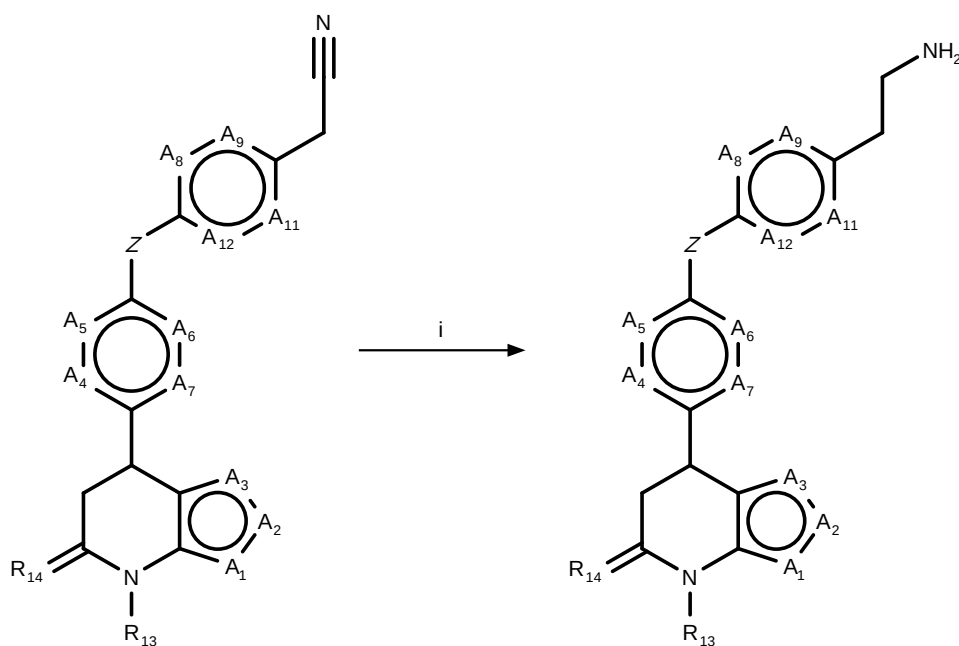
iv) RNH_2 , EDC, DMAP, DCM; y,

v) ROH, EDC, DMAP, DMF

El Esquema **1d** ilustra varias opciones para funcionalizar análogos de Fórmula I en donde A_{10} es CR_{10} en el cual R_{10} es CO_2Me , Y es un enlace simple carbono-carbono, y cada uno de R_{15} , R'_{15} y R_{16} es H. Z, R_{13} , R_{14} , A_1 , A_2 , A_3 , A_4 , A_5 , A_6 , A_7 , A_8 , A_9 , A_{11} y A_{12} tienen el significado descrito previamente. Cuando la Fórmula I contiene un resto éster en R_{10} , este se puede saponificar usando, por ejemplo, LiOH en THF/agua, para obtener el análogo de ácido carboxílico de Fórmula I. Los análogos de ácido carboxílico se pueden convertir en las correspondientes amidas y

ésteres, por ejemplo, por reacción con aminas o alcoholes usando métodos bien conocidos. En otra ocurrencia, el resto éster se puede reducir para obtener el análogo $-\text{CH}_2\text{OH}$ o el $-\text{CHO}$. En el Esquema **1d**, esto se ejemplifica para R_{10} , estas conversiones también se pueden aplicar para un resto éster en cualquiera de las posiciones R_4 a R_{12} .

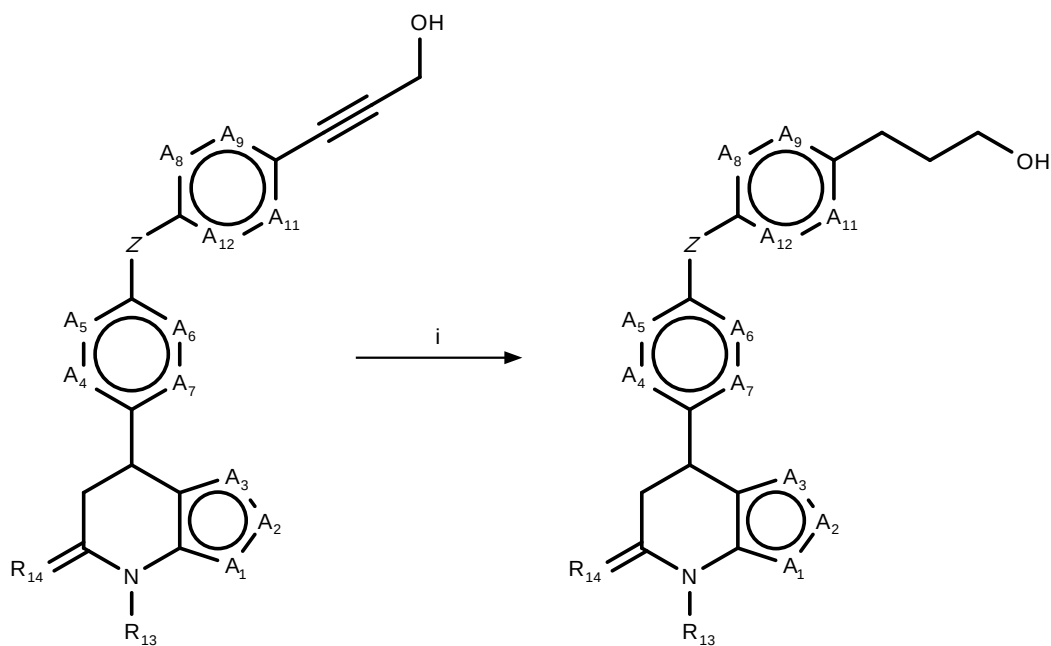
5 **Esquema 1e**



Condiciones: i) amoníaco en MeOH, níquel de Raney, MeOH.

El Esquema **1e** ilustra una vía general para la preparación de análogos de Fórmula I en donde Y es un enlace simple carbono-carbono y cada uno de R_{15} , R'_{15} y R_{16} es H. Z, R_{13} , R_{14} , A_1 , A_2 , A_3 , A_4 , A_5 , A_6 , A_7 , A_8 , A_9 , A_{11} y A_{12} tienen el significado descrito previamente. Cuando la Fórmula I contiene un resto nitrilo en R_{10} , este se puede reducir usando, por ejemplo, amoníaco en MeOH y níquel de Raney como catalizador, para obtener el análogo alquilo saturado de Fórmula I. En el Esquema **1e** esto se ejemplifica para R_{10} pero estas conversiones también se pueden aplicar para un resto nitrilo en cualquiera de las posiciones R_4 a R_{12} .

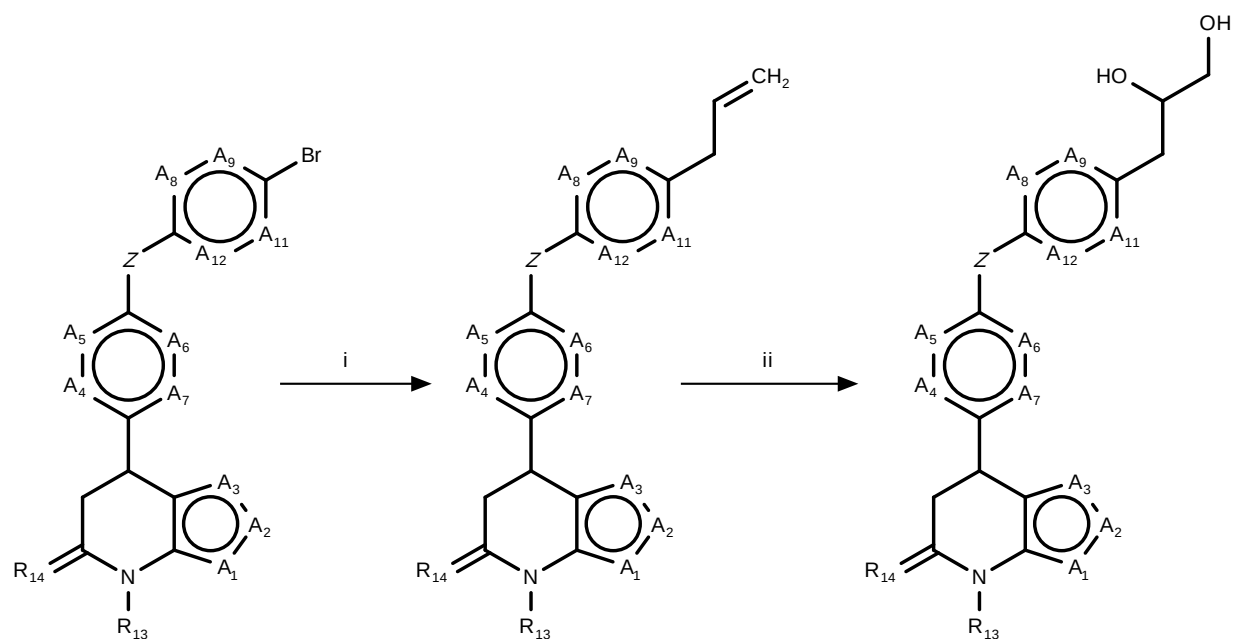
Esquema 1f



Condiciones: i) Gas hidrógeno, Pd/C, MeOH.

El Esquema 1f ilustra una vía general para la preparación de análogos de Fórmula I en donde Y es un enlace simple carbono-carbono y cada uno de R₁₅, R'₁₅ y R₁₆ es H. Z, R₁₃, R₁₄, A₁, A₂, A₃, A₄, A₅, A₆, A₇, A₈, A₉, A₁₁ y A₁₂ tienen el significado descrito previamente. Cuando Fórmula I contiene un enlace triple en R₁₀, este se puede reducir usando, por ejemplo, gas hidrógeno con Pd/C en MeOH, para obtener el análogo alquilo saturado de Fórmula I. Aunque en el Esquema 1f esto se ejemplifica para R₁₀, estas conversiones también se pueden aplicar para un resto de enlace triple en cualquiera de las posiciones R₄ a R₁₂.

Esquema 1g

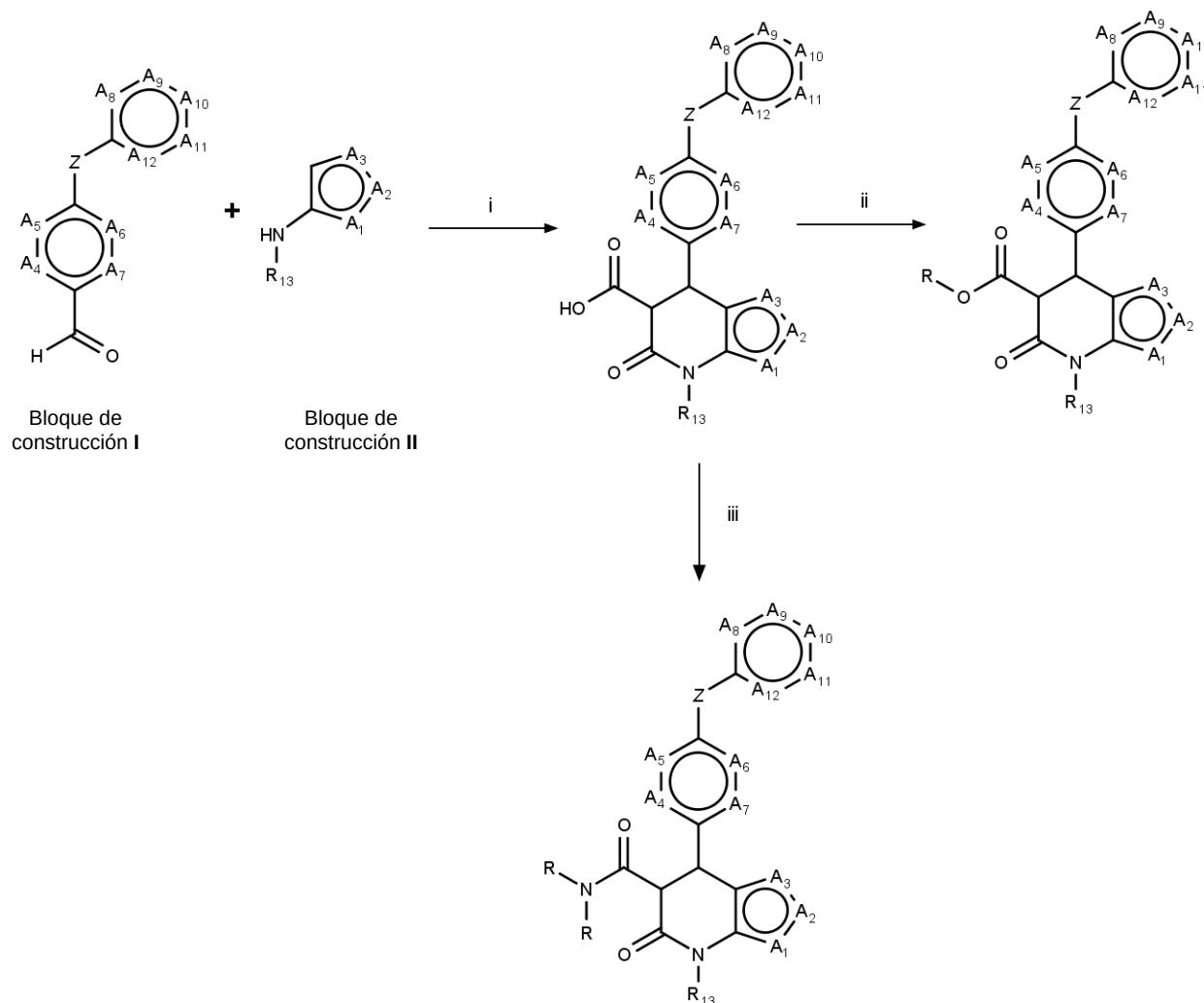


Condiciones: i) aliltri-*n*-butilestaño, Pd(PPh₃)₂Cl, PPh₃, DMF; y,

ii) OsO₄, NMO, acetona/agua

- 5 El Esquema **1g** ilustra una vía general para funcionalizar análogos de Fórmula I en donde Y es un enlace simple carbono-carbono, A₁₀ es C-Br, cada uno de R₁₅, R'₁₅ y R₁₆ es H y Z, R₁₃, R₁₄, A₁, A₂, A₃, A₄, A₅, A₆, A₇, A₈, A₉, A₁₁ y A₁₂ tienen el significado descrito previamente. El análogo que contiene bromo se puede hacer reaccionar con aliltri-*n*-butilestaño en condiciones de Stille. El análogo que contiene alilo obtenido de Fórmula I se puede hacer reaccionar adicionalmente a través de una dihidroxilación de Upjohn para obtener el análogo que contiene di-hidroxilo de Fórmula I. Aunque en el Esquema **1g** esto se ejemplifica para R₁₀, estas conversiones también se pueden aplicar para un resto bromo en cualquiera de las posiciones R₄ a R₁₂.
- 10

Esquema 1h



Condiciones: i) ácido de Meldrum, MeOH;

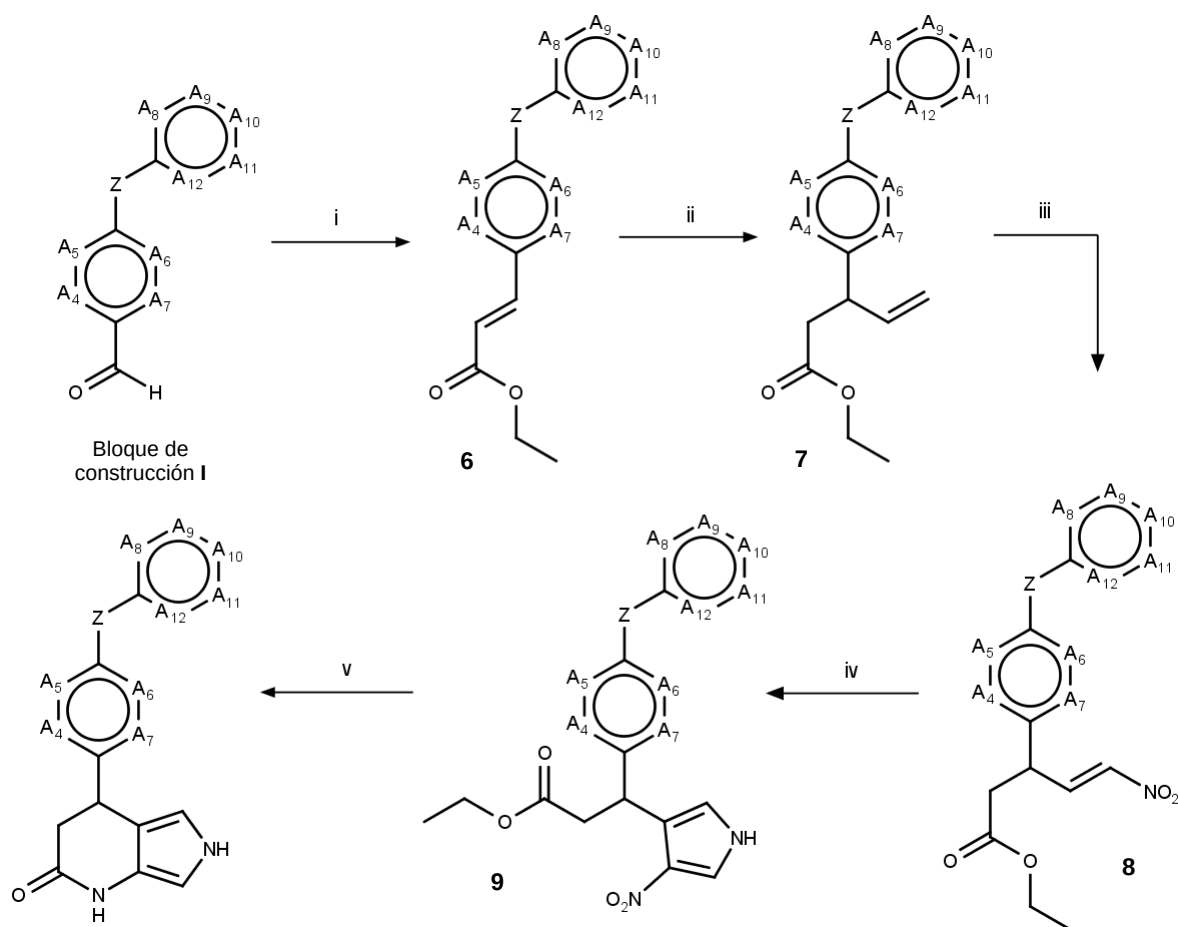
ii) ROH, DIAD, PPh_3 , THF; y,

iii) R_2NH , EDC, DMAP, DCM.

El Esquema **1h** ilustra una vía general para la preparación de análogos de Fórmula I en donde Y es un enlace simple carbono-carbono, R_{14} es oxígeno, R_{15} es COOH y cada uno de R'_{15} y R_{16} es H. Los compuestos de la invención se pueden obtener mediante una reacción entre un derivado del bloque de construcción I, en donde Z, A_4 , A_5 , A_6 , A_7 , A_8 , A_9 , A_{10} , A_{11} y A_{12} tienen el significado descrito previamente, un derivado del bloque de construcción II, en donde R_{13} , A_1 , A_2 , A_3 tienen el significado descrito previamente, y ácido de Meldrum a temperatura ambiente.

Cuando R_{15} es COOH , este resto de ácido carboxílico se puede funcionalizar hacia un éster, usando, por ejemplo, un alcohol, DIAD y PPh_3 en THF. O se puede funcionalizar hacia una amida, usando, por ejemplo, una amina primaria o secundaria, EDC y DMAP en DCM.

5 Esquema 1i



Condiciones: i) $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OCOCH}_2\text{P}(\text{Ph})_3\text{Br}$, $t\text{BuOK}$, Et_2O ;

ii) CH_2CHMgBr , PhSCu(I) , THF;

iii) TEMPO, $t\text{BuONO}$, 1,4-dioxano;

iv) TOSMIC, $t\text{BuOK}$, THF; y,

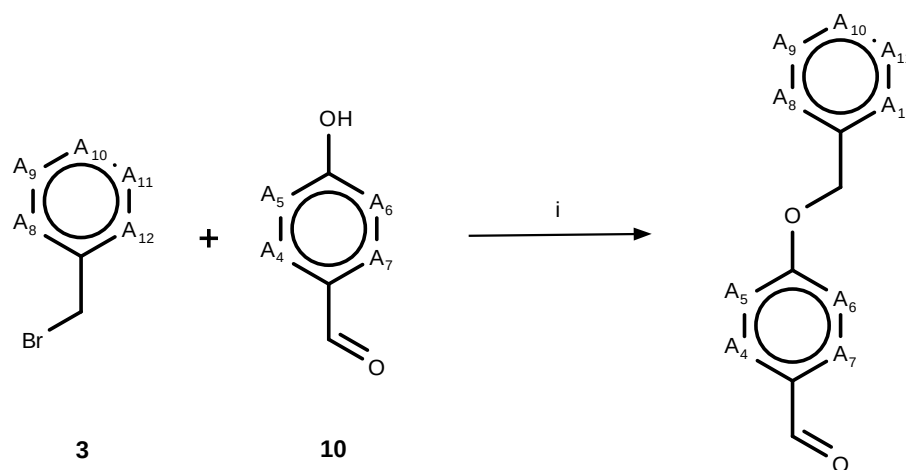
v) Zn , AcOH .

El Esquema 1i ilustra una vía general para la formación de análogos de Fórmula I en donde A_1 y A_3 son CH , A_2 es NH , Y es un enlace simple carbono-carbono, R_{14} es oxígeno, R_{13} es H , cada

uno de R_{15} , R'_{15} y R_{16} es H y Z, A_4 , A_5 , A_6 , A_7 , A_8 , A_9 , A_{10} , A_{11} y A_{12} tienen el significado descrito previamente.

El intermediario **7** se puede obtener a través de una reacción de Wittig del Bloque de Construcción I, usando, por ejemplo, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OCOCH}_2\text{P}(\text{Ph})_3\text{Br}$ y $t\text{BuOK}$ en Et_2O , seguido por una reacción con, por ejemplo, bromuro de vinilmagnesio y PhSCu(I) en THF. La posterior introducción del grupo nitro en la *E*-confirmación se puede lograr usando, por ejemplo, TEMPO y $t\text{BuONO}$ en 1,4-dioxano. El intermediario pirrol **9** se obtuvo mediante una [3+2]cicloadición del intermediario **8**, usando, por ejemplo, TOSMIC y $t\text{BuOK}$ en THF. La reducción del nitro, seguido por el cierre del anillo para obtener el análogo de Fórmula I, se realizó en un solo paso usando, por ejemplo, polvo de zinc en AcOH.

Esquema 2



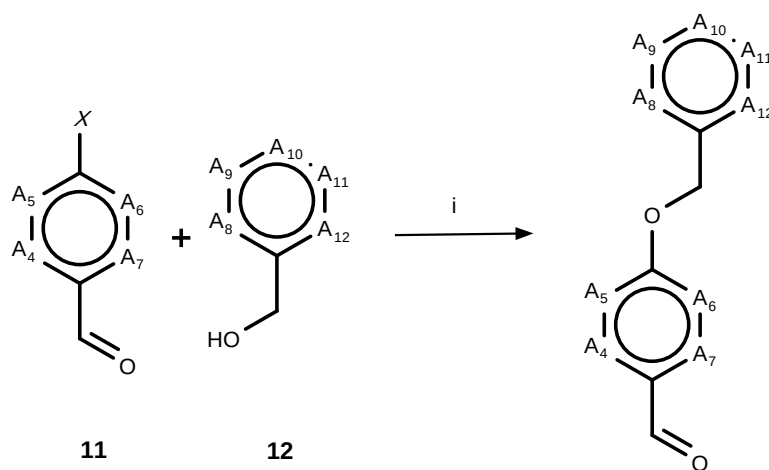
Condiciones: i) K_2CO_3 , ACN

El Esquema 2 ilustra un método general para preparar derivados del Bloque de Construcción de benzaldehído I, en donde Z es $-\text{OCH}_2-$ y A_4 , A_5 , A_6 , A_7 , A_8 , A_9 , A_{10} , A_{11} y A_{12} tienen el significado descrito previamente.

La alquilación de parahidroxibenzaldehído **10** con haluro de bencilo **3** en condiciones básicas usando, por ejemplo, K_2CO_3 , proporciona los correspondientes derivados de benzaldehído del bloque de construcción I. El haluro de bencilo deseado **3** se puede obtener también a partir del correspondiente tolueno o alcohol bencílico por reacciones de bromación que son bien conocidas en el arte.

- Los derivados del bloque de construcción I que contienen un bromuro en R₈–R₁₂ se pueden derivatizar adicionalmente, luego de la protección acetal del aldehído, usando acoplamientos catalizados con paladio. Luego del acoplamiento, el aldehído se desprotege nuevamente para obtener el análogo del Bloque de Construcción I. Cuando se obtiene un resto éster luego del acoplamiento catalizado con paladio, este resto éster se puede reducir, antes de la desprotección del aldehído, para obtener un resto alquilo hidroxilado en R₈–R₁₂. Luego, el aldehído se desprotege para obtener el análogo del Bloque de Construcción I deseado. En otra forma de realización, cuando se obtiene un resto éster luego de la reacción catalizada con paladio, este éster se puede hacer reaccionar con un reactivo de Grignard para obtener un alcohol terciario.
- El análogo del Bloque de Construcción I que contiene un hidroxilo en R₁₀ se puede obtener a partir del correspondiente análogo de bromo del Bloque de Construcción I, protegiendo primero el aldehído con un acetal. Luego, el bromo se convierte en un éster borónico a través de un acoplamiento catalizado con paladio, seguido por una reacción con peróxido de hidrógeno para introducir el resto hidroxilo. Luego de la desprotección del aldehído, se obtiene el análogo del Bloque de Construcción I.
- Un bromo en R₈–R₁₂ del Bloque de Construcción I también se puede sustituir con etilenglicol, usando, por ejemplo, bromuro de cobre (II) y carbonato de potasio.
- En otra forma de realización, cuando R₄–R₇ en el Bloque de Construcción I es un flúor, este flúor se puede sustituir en condiciones básicas –tales como K₂CO₃ en DMF a 110 °C– usando una amina apropiada para obtener el correspondiente análogo alquilamina del Bloque de Construcción I.

Esquema 2b



Condiciones: (X = F; cuando $A_5=A_6= N$ entonces $X=Cl$)

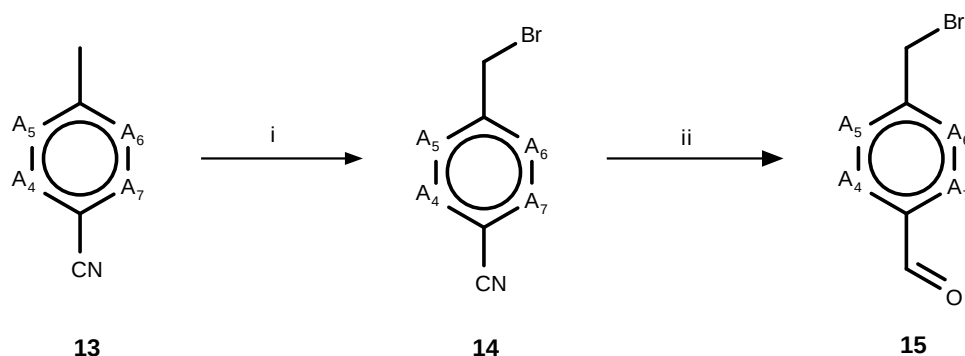
i) NaH, DMF

El Esquema **2b** ilustra un método alternativo para preparar derivados benzaldehído del Bloque de Construcción **I**, en donde Z es $-OCH_2-$ y $A_4, A_5, A_6, A_7, A_8, A_9, A_{10}, A_{11}$ y A_{12} tienen el significado descrito previamente.

El benzaldehído **11** se puede hacer reaccionar con alcohol bencílico **12** en condiciones básicas usando, por ejemplo, hidruro de sodio en DMF, para obtener análogos del Bloque de Construcción **I**.

Se puede obtener alcohol bencílico **12** a través de la reducción del correspondiente benzaldehído usando, por ejemplo, complejo $BH_3 \cdot THF$.

Esquema 3



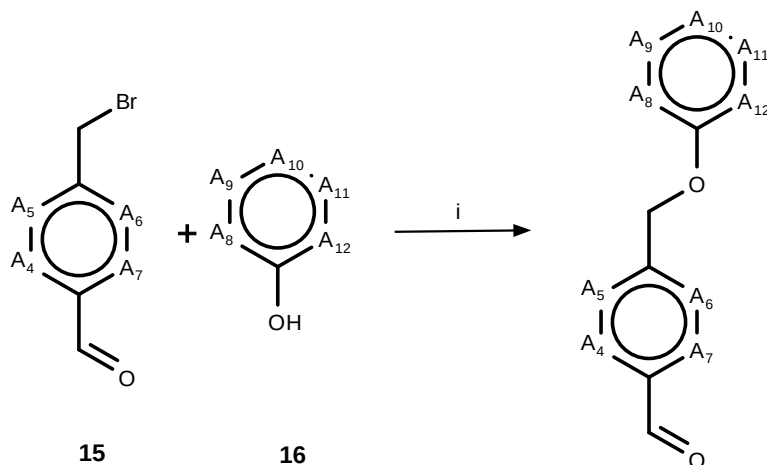
Condiciones: i) NBS, AIBN, ACN; y,

ii) DiBAL-H, tolueno

El Esquema **3** ilustra un método general para preparar derivados de benzaldehído **15**, en donde $A_4, A_5, A_6,$ y A_7 tienen el significado descrito previamente.

La bromación de benzonitrilo **13** usando, por ejemplo, NBS y AIBN en ACN, proporciona benzonitrilo **14**. Tras la reducción del nitrilo usando, por ejemplo, DiBAL-H en tolueno, se puede preparar derivados de benzaldehído **15**.

Esquema 3b



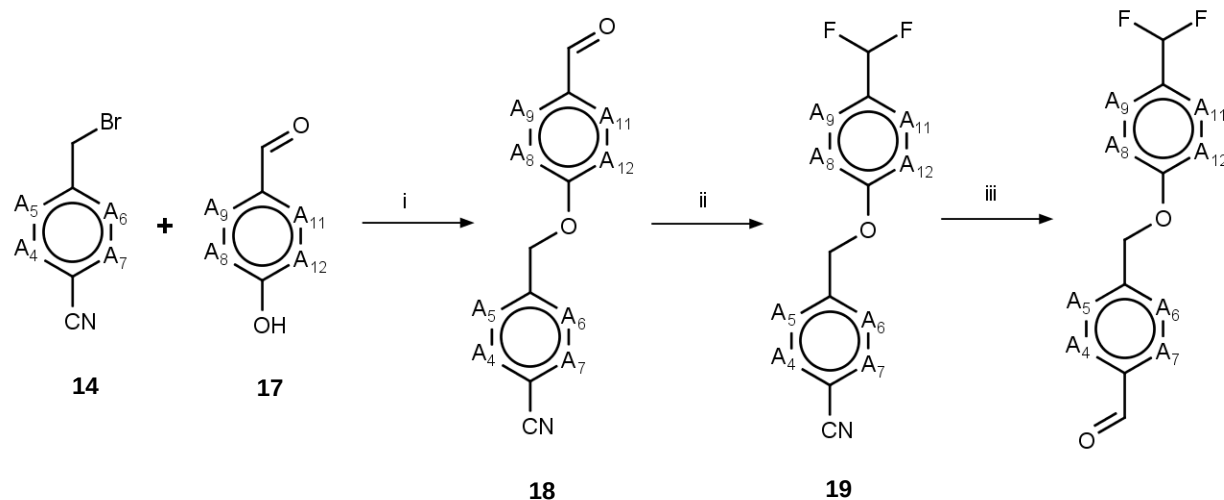
Condiciones: i) K_2CO_3 , DMF

El Esquema **3b** ilustra un método general para preparar derivados benzaldehído del Bloque de Construcción I, en donde Z es $-\text{CH}_2\text{O}-$ y A_4 , A_5 , A_6 , A_7 , A_8 , A_9 , A_{10} , A_{11} y A_{12} tienen el significado descrito previamente.

La alquilación de fenol **16** con benzaldehído **15** en condiciones básicas usando, por ejemplo, K_2CO_3 , proporciona los correspondientes derivados benzaldehído del Bloque de Construcción I.

Cuando el Bloque de Construcción I obtenido contiene un bromo en R_{10} , esta posición se puede funcionalizar mediante una reacción catalizada por paladio, por ejemplo, con $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, CuI , DBU y alcohol propargílico.

Esquema 3c



Condiciones: i) K_2CO_3 , ACN;

ii) DAST, DCM; y,

iii) DiBAL-H, tolueno.

El Esquema **3c** ilustra un método general para preparar derivados benzaldehído del Bloque de Construcción **I**, en donde A_{10} es CF_2 , Z es $-CH_2O-$ y $A_4, A_5, A_6, A_7, A_8, A_9, A_{11}$ y A_{12} tienen el significado descrito previamente. La alquilación de fenol **17** con benzonitrilo **14** en condiciones básicas usando, por ejemplo, K_2CO_3 , proporciona el correspondiente aldehído **18**. El aldehído se puede convertir en un grupo CF_2 usando un agente de fluoración, por ejemplo, DAST. A través de la reducción del nitrilo –usando, por ejemplo, DiBAL-H en tolueno– se pueden preparar derivados benzaldehído del Bloque de Construcción **I**. En el Esquema **3c**, esto se ejemplifica para R_{10} , estas conversiones también se pueden aplicar para un resto aldehído en cualquiera de las posiciones R_4 a R_{12} .

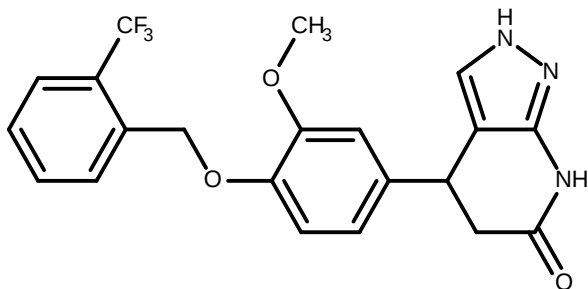
Los siguientes ejemplos son ilustrativos de la presente invención y no tienen por fin limitar el alcance of la invención de ninguna manera.

EJEMPLOS

Todos los bloques de construcción usados están disponibles comercialmente, son conocidos o se preparan de acuerdo con métodos conocidos por el especialista en el arte.

Ejemplos 1–220

1: 4–(3–metoxi–4–{[2–(trifluorometil)fenil]metoxi}fenil)–2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*–pirazolo[3,4–*b*]piridin–6–ona



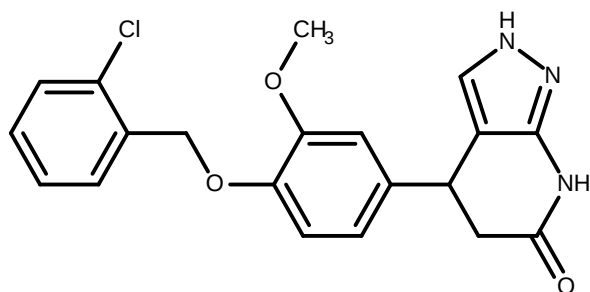
i) A una solución de bromuro de 2–(trifluorometil)bencilo (0,93 g) en ACN (60 ml) se agregó K_2CO_3 (2,53 g) y vainillín (1,46 g). La mezcla de reacción se calentó hasta 70 °C y se agitó hasta el día siguiente. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se concentró

bajo presión reducida y el producto en bruto resultante se dividió entre agua y DCM. La capa acuosa se extrajo dos veces más con DCM y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO_4 , se filtraron y se concentraron bajo presión reducida para proporcionar 1,76 g de 3-metoxi-4-[[2-(trifluorometil)fenil]metoxi]benzaldehído. El producto se usó en el siguiente paso sin purificación adicional.

ii) El producto obtenido en el paso anterior (377 mg), ácido de Meldrum (175 mg) y 3-aminopirazol (101 mg) se disolvieron en MeOH. La mezcla de reacción se calentó hasta 65 °C y se agitó hasta el día siguiente. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, el producto se precipitó. Los sólidos se filtraron y se lavaron con MeOH para obtener 4-(3-metoxi-4-[[2-(trifluorometil)fenil]metoxi]fenil)-2H,4H,5H,6H,7H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona (289 mg) en forma de sólido blanquecino. MS(ES^+) m/z 418.2 ($\text{M}+\text{H}^+$).

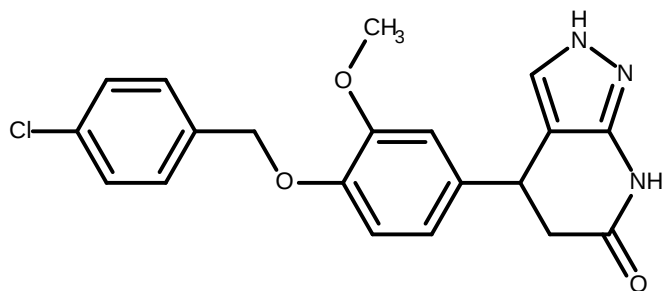
Siguiendo un procedimiento análogo al descrito para el ejemplo 1, usando materiales iniciales apropiados, se prepararon los siguientes compuestos.

2: 4-{4-[(2-clorofenil)metoxi]-3-metoxifenil}-2H,4H,5H,6H,7H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona



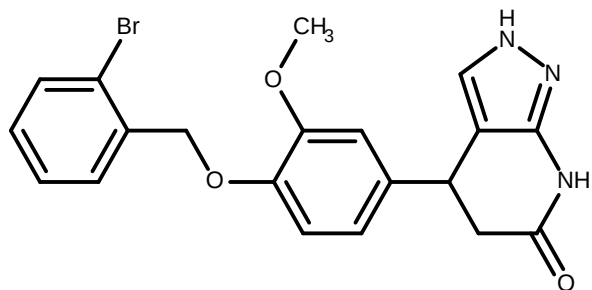
MS(ES^+) m/z 384.2 ($\text{M}+\text{H}^+$).

3: 4-{4-[(4-clorofenil)metoxi]-3-metoxifenil}-2H,4H,5H,6H,7H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona



MS(ES⁺) *m/z* 384.2 (M+H)⁺.

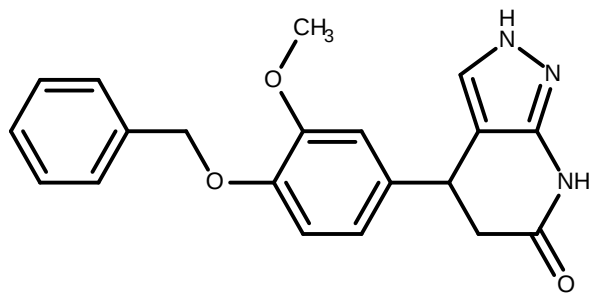
4: 4-[4-[(2-bromofenil)metoxi]-3-metoxifenil]-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



5

MS(ES⁺) *m/z* 350.2 (M+H)⁺.

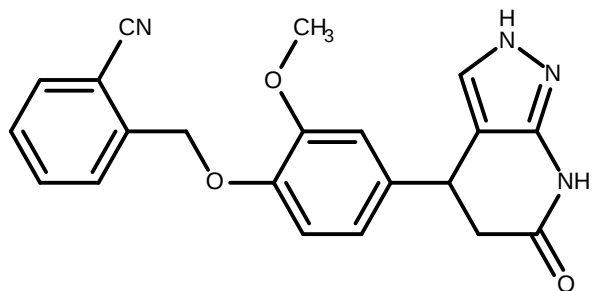
5: 4-[4-(benciloxi)-3-metoxifenil]-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



MS(ES⁺) *m/z* 428.2 (M+H)⁺.

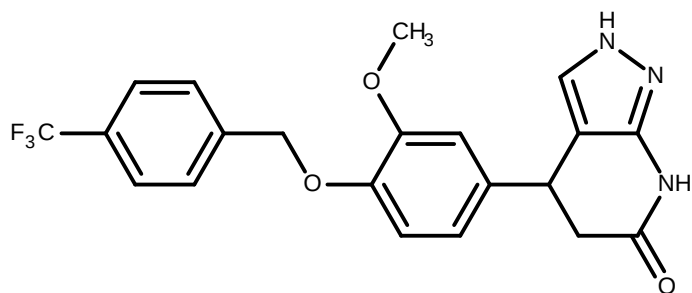
10

6: 2-(2-metoxi-4-[6-oxo-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-4-il]fenoximetil)benzonitrilo



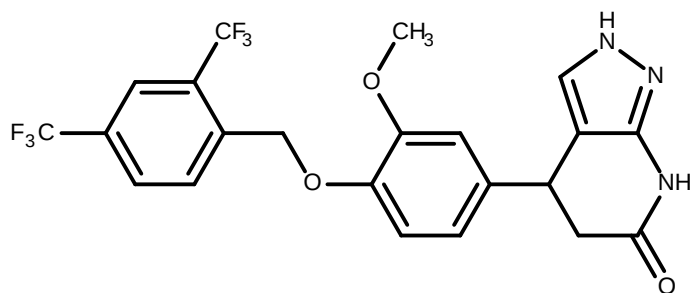
MS(ES⁺) *m/z* 375.2 (M+H)⁺.

7: 4-(3-methoxy-4-[[4-(trifluorometil)fenil]metoxi]fenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-
5 6-ona



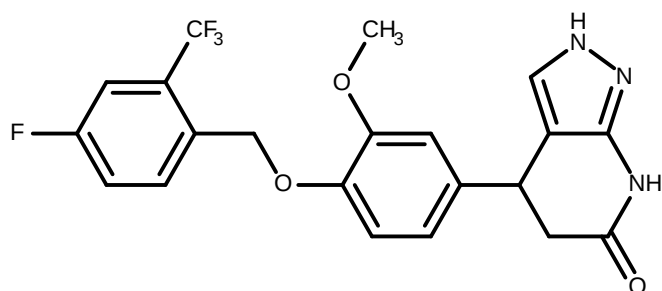
MS(ES⁺) *m/z* 418.2 (M+H)⁺.

8: 4-(4-[[2,4-bis(trifluorometil)fenil]metoxi]-3-metoxifenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-
10 *b*]piridin-6-ona



MS(ES⁺) *m/z* 486.2 (M+H)⁺.

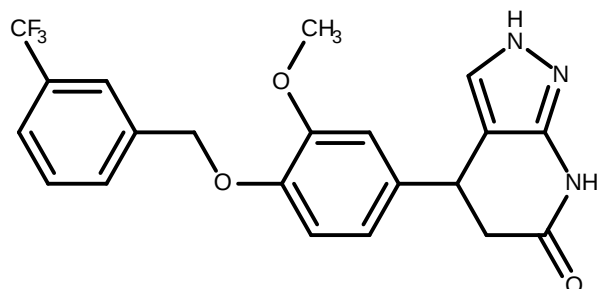
9: 4-(4-[[4-fluoro-2-(trifluorometil)fenil]metoxi]-3-metoxifenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



MS(ES⁺) *m/z* 436.2 (M+H)⁺.

5

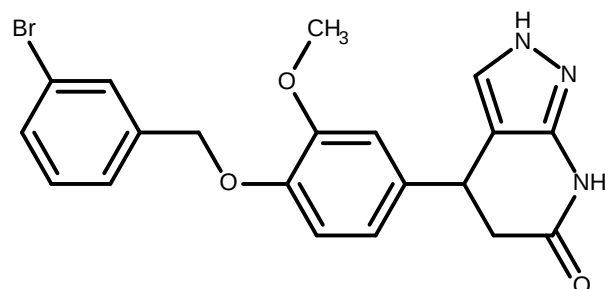
10: 4-(3-metoxi-4-[[3-(trifluorometil)fenil]metoxi]fenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



MS(ES⁺) *m/z* 418.2 (M+H)⁺.

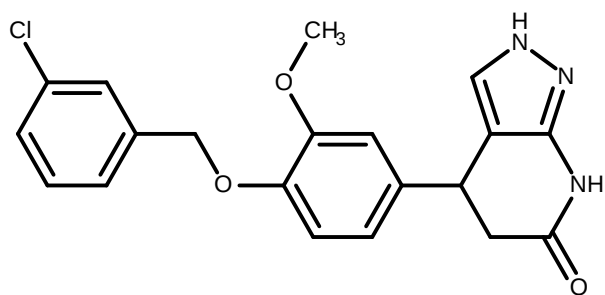
10

11: 4-(4-[(3-bromofenil)metoxi]-3-metoxifenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



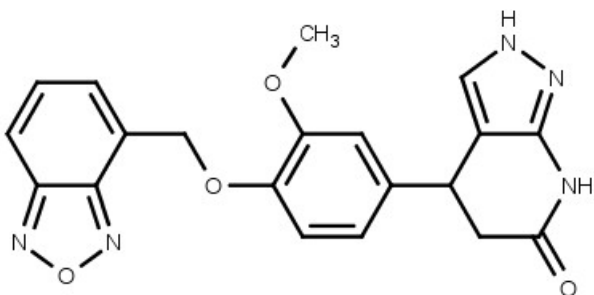
MS(ES⁺) *m/z* 428.2 (M+H)⁺.

12: 4-{4-[(3-clorofenil)metoxi]-3-metoxifenil}-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



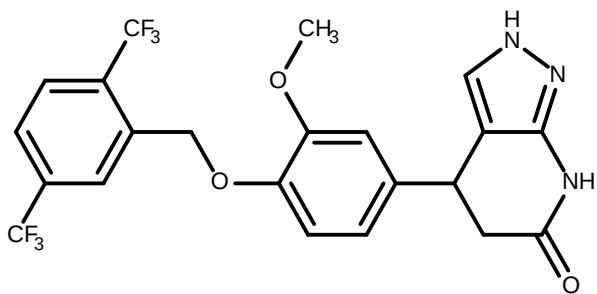
MS(ES⁺) *m/z* 384.2 (M+H)⁺.

5 **13:** 4-{4-[(2,1,3-benzoxadiazol-4-il)metoxi]-3-metoxifenil}-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



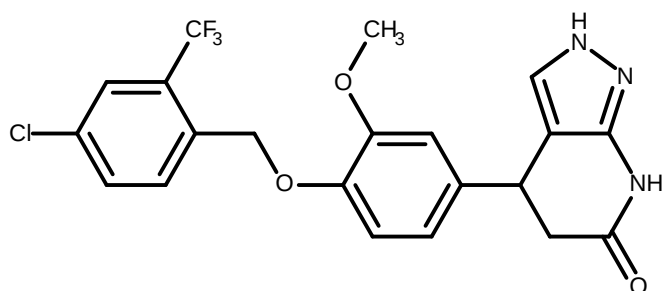
MS(ES⁺) *m/z* 392.1 (M+H)⁺

10 **14:** 4-{4-[[2,5-bis(trifluorometil)fenil]metoxi]-3-metoxifenil}-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



MS(ES⁺) *m/z* 486.2 (M+H)⁺.

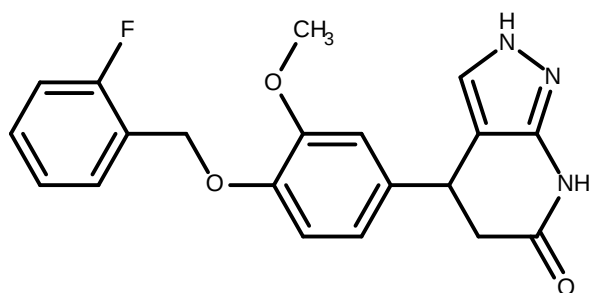
15: 4-(4-[[4-cloro-2-(trifluorometil)fenil]metoxi]-3-metoxifenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



MS(ES⁺) *m/z* 452.2 (M+H)⁺.

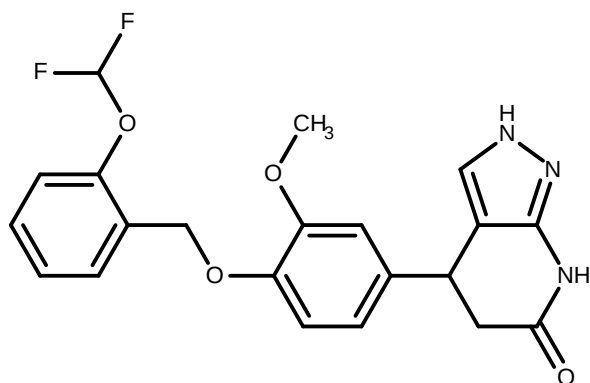
5

16: 4-(4-[[2-fluorofenil]metoxi]-3-metoxifenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



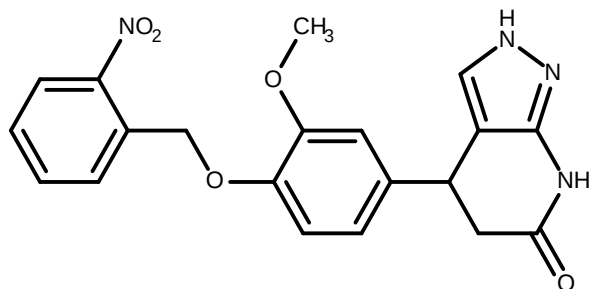
MS(ES⁺) *m/z* 368.2 (M+H)⁺.

10 **17:** 4-(4-[[2-(difluorometoxi)fenil]metoxi]-3-metoxifenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



MS(ES⁺) *m/z* 416.2 (M+H)⁺.

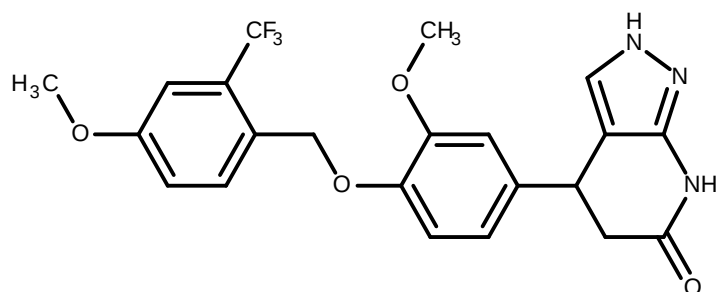
18: 4-{3-metoxi-4-[(2-nitrofenil)metoxi]fenil}-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



MS(ES⁺) *m/z* 395.2 (M+H)⁺.

5

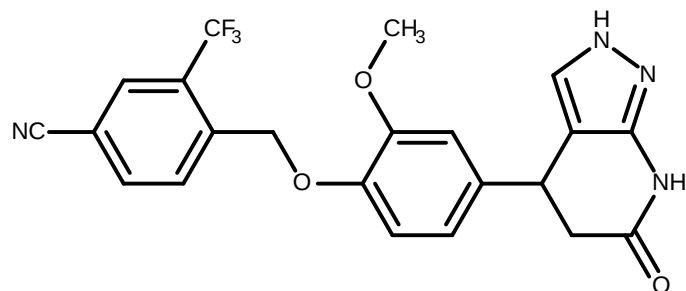
19: 4-(3-metoxi-4-{[4-metoxi-2-(trifluorometil)fenil]metoxi}fenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



MS(ES⁺) *m/z* 448.2 (M+H)⁺.

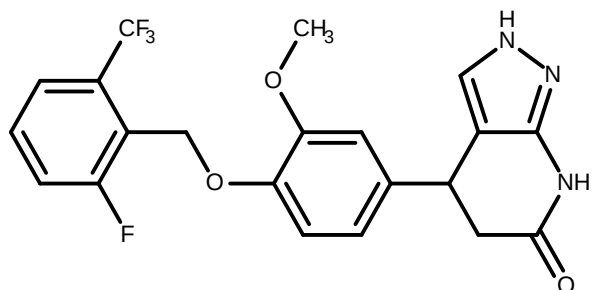
10

20: 4-(2-metoxi-4-{6-oxo-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-4-il}fenoximetil)-3-(trifluorometil)benzonitrilo



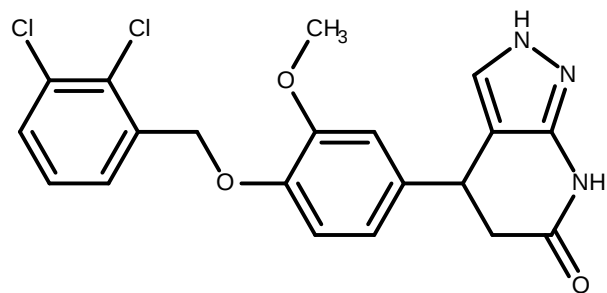
MS(ES⁺) *m/z* 443.2 (M+H)⁺.

21: 4-(4-[[2-fluoro-6-(trifluorometil)fenil]metoxi]-3-metoxifenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



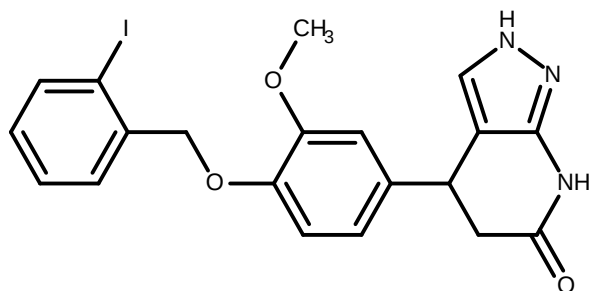
5 MS(ES⁺) *m/z* 436.2 (M+H)⁺.

22: 4-{4-[(2,3-diclorofenil)metoxi]-3-metoxifenil}-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



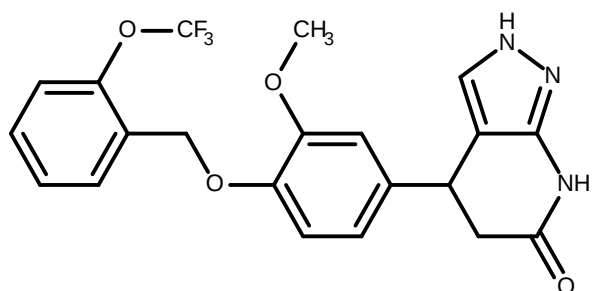
10 MS(ES⁺) *m/z* 418.2 (M+H)⁺.

23: 4-{4-[(2-iodofenil)metoxi]-3-metoxifenil}-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



MS(ES⁺) *m/z* 476.2 (M+H)⁺.

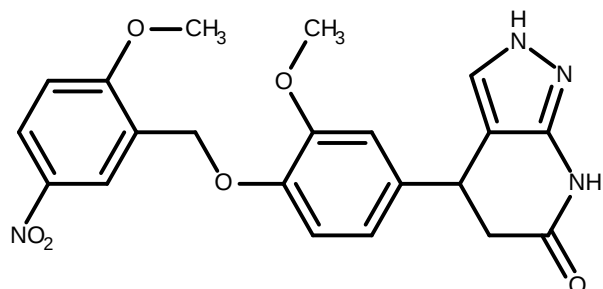
24: 4-(3-metoxi-4-[[2-(trifluorometoxi)fenil]metoxi]fenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



MS(ES⁺) *m/z* 434.2 (M+H)⁺.

5

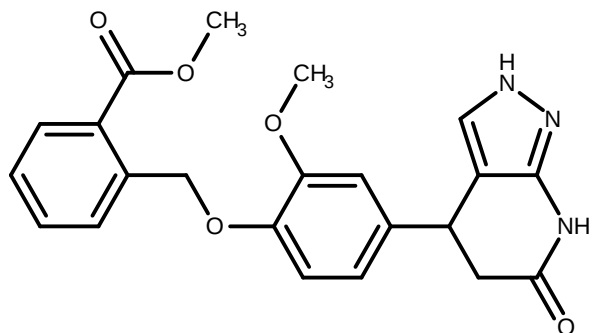
25: 4-{3-metoxi-4-[(2-metoxi-5-nitrofenil)metoxi]fenil}-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



MS(ES⁺) *m/z* 425.2 (M+H)⁺.

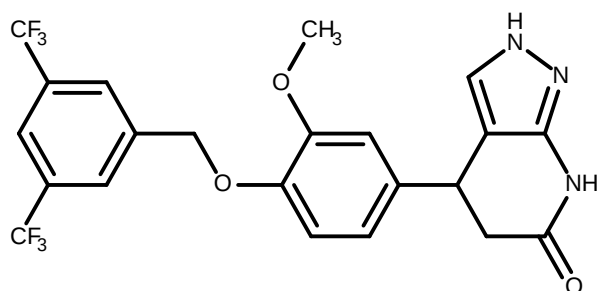
10

26: 2-(2-metoxi-4-{6-oxo-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-4-il}fenoximetil)benzoato de metilo



MS(ES^+) m/z 408.2 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

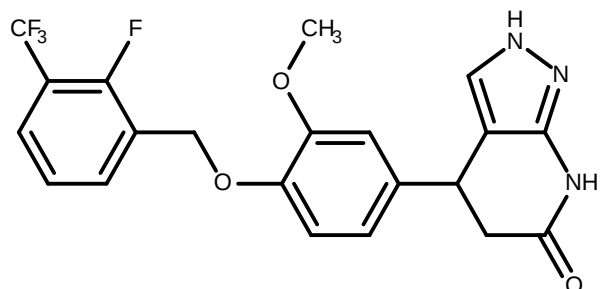
27: 4-(4-[[3,5-bis(trifluorometil)fenil]metoksi]-3-metoxifenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



MS(ES⁺) *m/z* 486.2 (M+H)⁺.

5

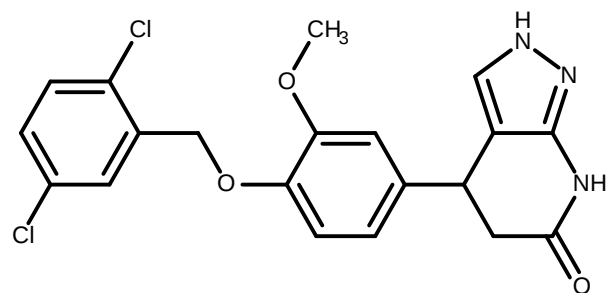
28: 4-(4-[[2-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]metoksi]-3-metoxifenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



MS(ES⁺) *m/z* 436.2 (M+H)⁺.

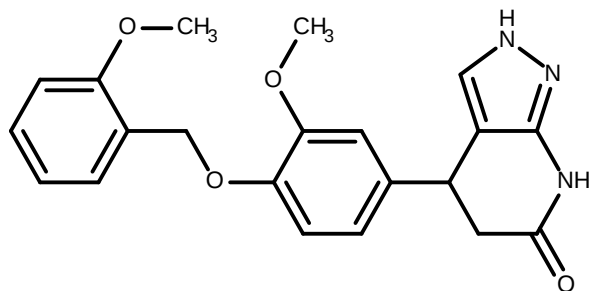
10

29: 4-{4-[(2,5-diclorofenil)metoksi]-3-metoxifenil}-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



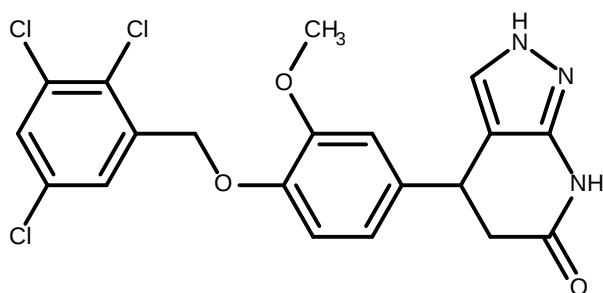
MS(ES⁺) *m/z* 418.2 (M+H)⁺.

30: 4-{3-metoxi-4-[(2-metoxifenil)metoxi]fenil}-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



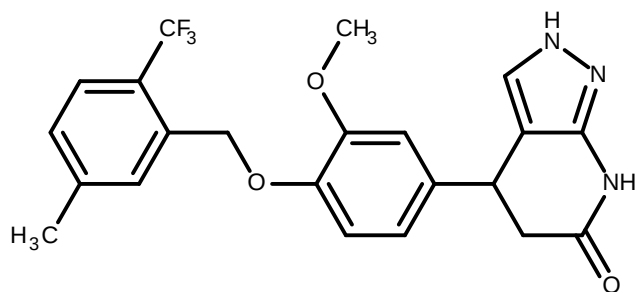
MS(ES⁺) *m/z* 380.2 (M+H)⁺.

5 **31:** 4-{3-metoxi-4-[(2,3,5-triclorofenil)metoxi]fenil}-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



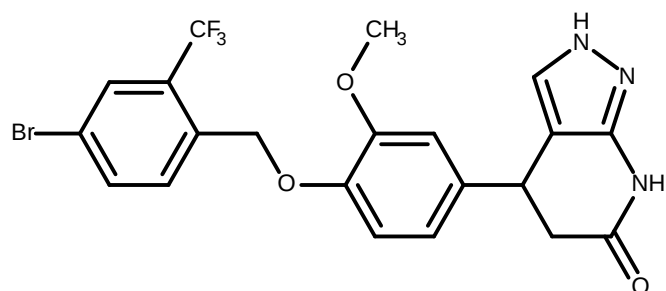
MS(ES⁺) *m/z* 452.2 (M+H)⁺.

10 **32:** 4-(3-metoxi-4-[[5-metil-2-(trifluorometil)fenil]metoxi]fenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



MS(ES⁺) *m/z* 432.2 (M+H)⁺.

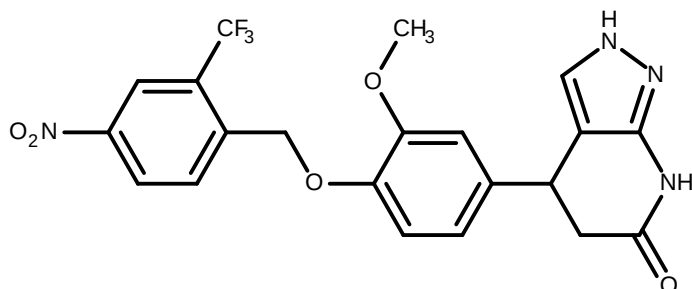
33: 4-(4-[[4-bromo-2-(trifluorometil)fenil]metoxi]-3-metoxifenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



MS(ES⁺) *m/z* 496.2 (M+H)⁺.

5

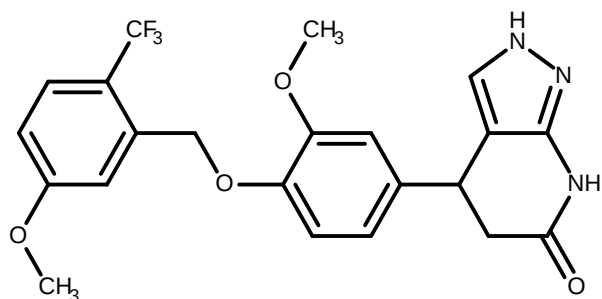
34: 4-(3-metoxi-4-[[4-nitro-2-(trifluorometil)fenil]metoxi]fenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



MS(ES⁺) *m/z* 463.2 (M+H)⁺

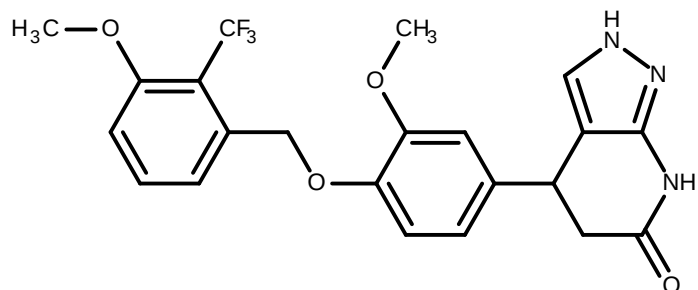
10

35: 4-(3-metoxi-4-[[5-metoxi-2-(trifluorometil)fenil]metoxi]fenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



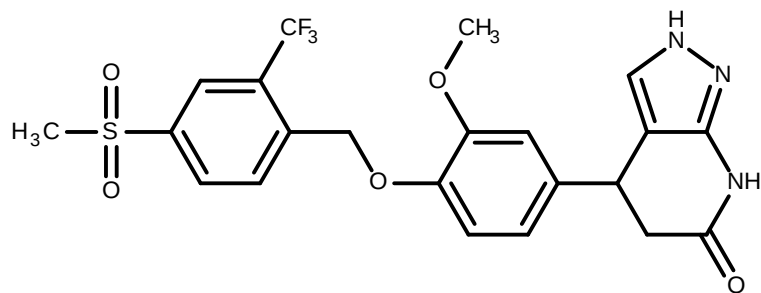
MS(ES⁺) *m/z* 448.2 (M+H)⁺

36: 4-(3-metoxi-4-[[3-metoxi-2-(trifluorometil)fenil]metoxi]fenil)-2H,4H,5H,6H,7H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona



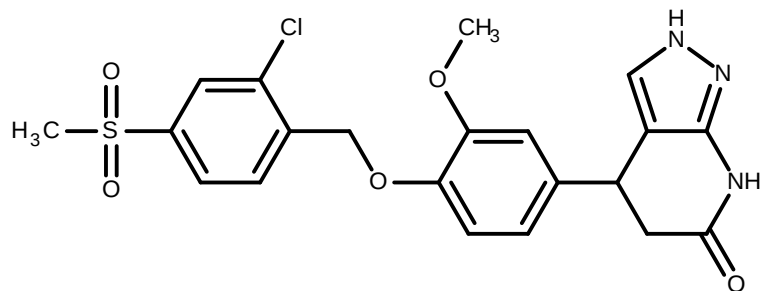
5 MS(ES⁺) *m/z* 448.2 (M+H)⁺

37: 4-(4-[[4-metanosulfonil-2-(trifluorometil)fenil]metoxi]-3-metoxifenil)-2H,4H,5H,6H,7H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona



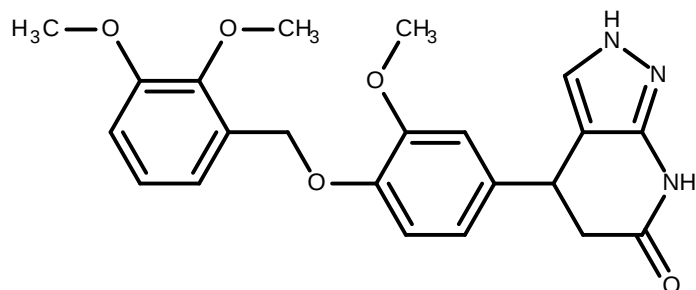
10 MS(ES⁺) *m/z* 496.2 (M+H)⁺

38: 4-{4-[(2-cloro-4-metanosulfonilfenil)metoxi]-3-metoxifenil}-2H,4H,5H,6H,7H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona



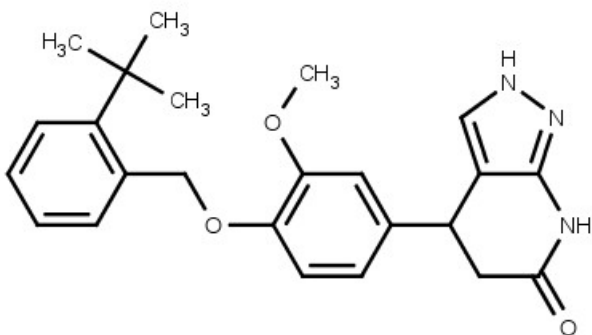
MS(ES⁺) *m/z* 462.2 (M+H)⁺

39: 4-{4-[(2,3-dimetoxifenil)metoxi]-3-metoxifenil}-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



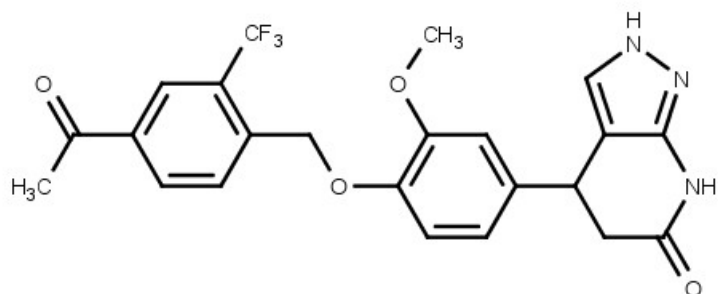
5 MS(ES⁺) *m/z* 410.2 (M+H)⁺

40: 4-{4-[(2-*ter*-butilfenil)metoxi]-3-metoxifenil}-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



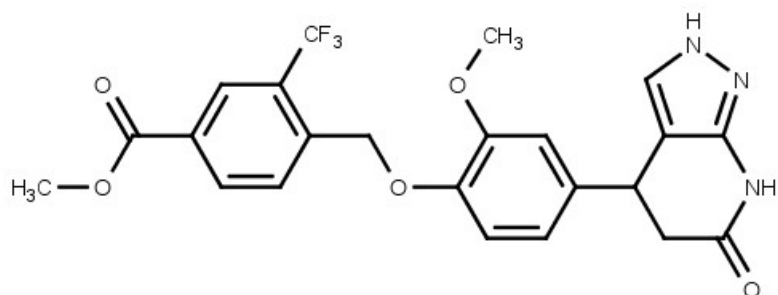
10 MS(ES⁺) *m/z* 406.2 (M+H)⁺

41: 4-(4-{[4-acetil-2-(trifluorometil)fenil]metoxi}-3-metoxifenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



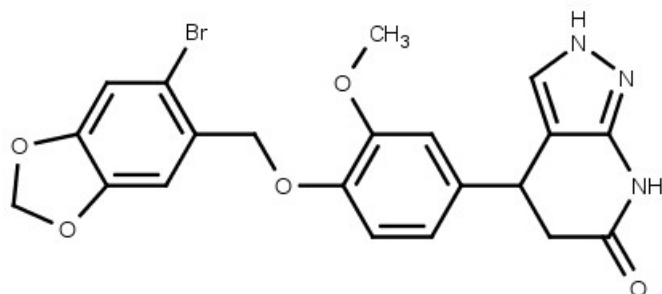
MS(ES⁺) *m/z* 460.1 (M+H)⁺

5 **42:** 4-[(2-metoxi-4-{6-oxo-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-4-il}fenoxy)metil]-3-(trifluorometil)benzoato de metilo



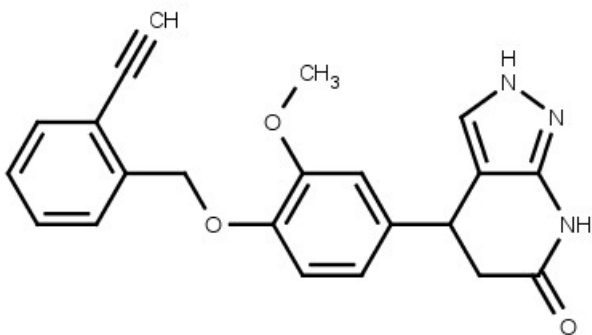
MS(ES⁺) *m/z* 476.1 (M+H)⁺

10 **43:** 4-{4-[(6-bromo-2*H*-1,3-benzodioxol-5-il)metoxi]-3-metoxifenil}-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



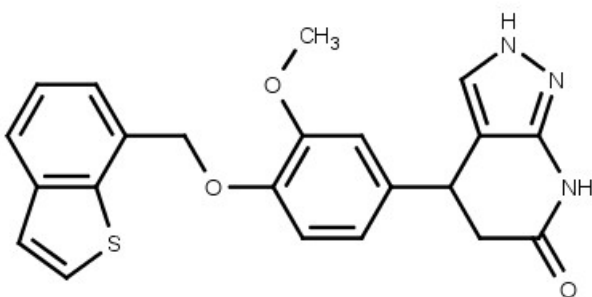
MS(ES⁺) *m/z* 472.0 (M+H)⁺

44: 4-{4-[(2-etinilfenil)metoxi]-3-metoxifenil}-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



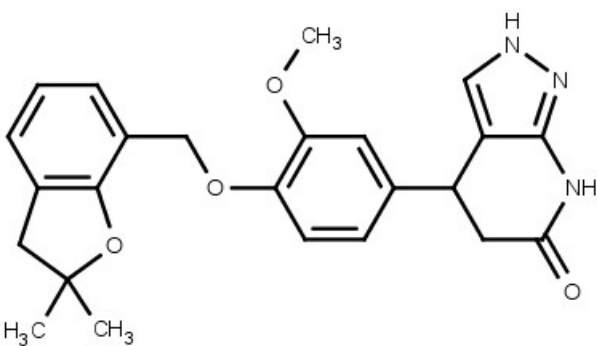
MS(ES⁺) *m/z* 374.1 (M+H)⁺

45: 4-{4-[(1-benzotiofen-7-il)metoxi]-3-metoxifenil}-2H,4H,5H,6H,7H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona



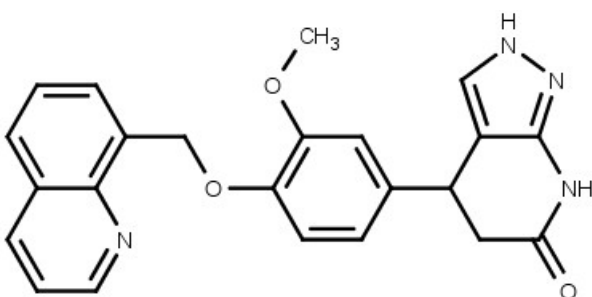
MS(ES⁺) *m/z* 406.1 (M+H)⁺

46: 4-{4-[(2,2-dimetil-2,3-dihidro-1-benzofuran-7-il)metoxi]-3-metoxifenil}-2H,4H,5H,6H,7H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona



MS(ES⁺) *m/z* 420.2 (M+H)⁺

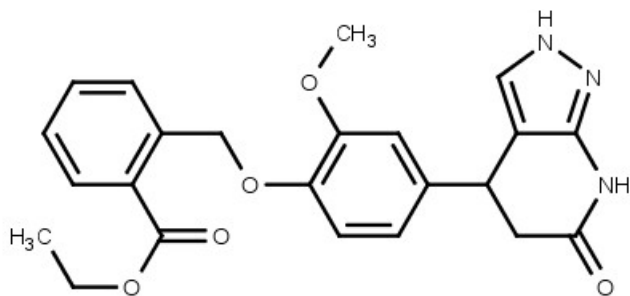
47: 4-{3-metoxi-4-[(quinolin-8-il)metoxi]fenil}-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



MS(ES⁺) *m/z* 401.2 (M+H)⁺

5

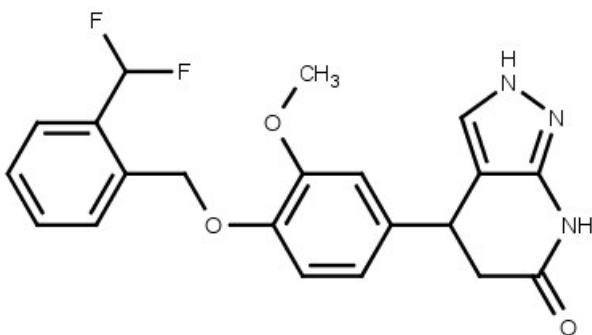
48: 2-[(2-metoxi-4-{6-oxo-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-4-il}fenoxi)metil]benzoato de etilo



MS(ES⁺) *m/z* 422.2 (M+H)⁺

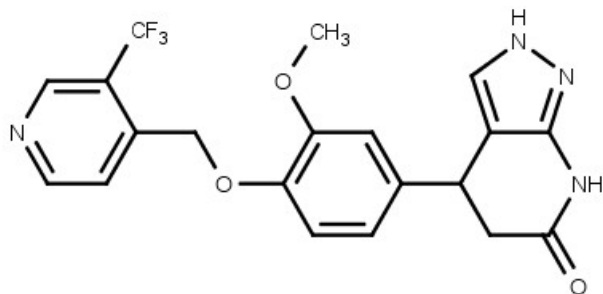
10

49: 4-(4-{[2-(difluorometil)fenil]metoxi}-3-metoxifenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



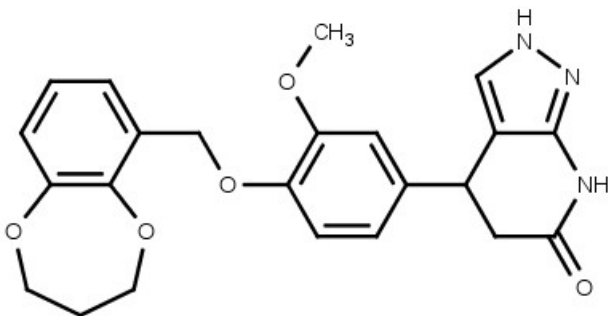
MS(ES⁺) *m/z* 400.1 (M+H)⁺

50: 4-(3-metoxi-4-[[3-(trifluorometil)piridin-4-il]metoxi]fenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



5 MS(ES⁺) *m/z* 419.1 (M+H)⁺

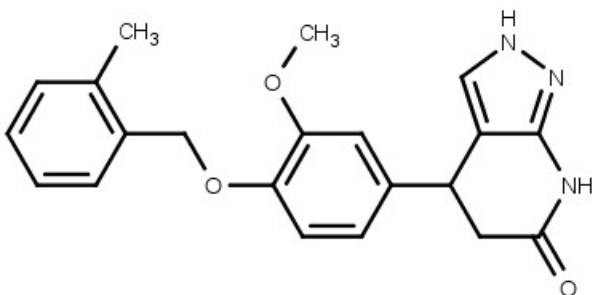
51: 4-{4-[(3,4-dihidro-2H-1,5-benzodioxepin-6-il)metoxi]-3-metoxifenil}-2H,4H,5H,6H,7H-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



MS(ES⁺) *m/z* 422.2 (M+H)⁺

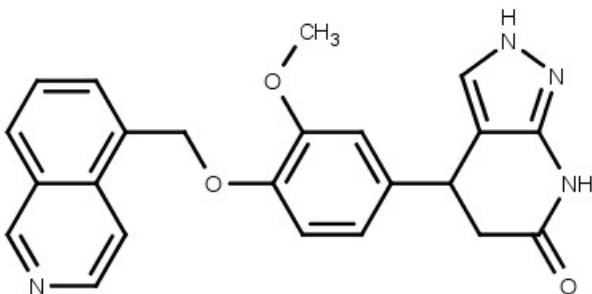
5

52: 4-{3-metoxi-4-[(2-metilfenil)metoxi]fenil}-2H,4H,5H,6H,7H-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



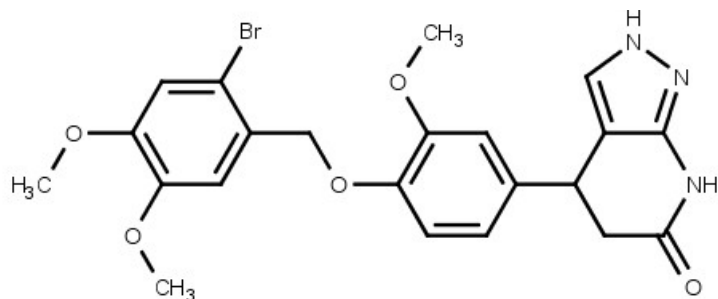
MS(ES⁺) *m/z* 364.2 (M+H)⁺

10 **53:** 4-{4-[(isoquinolin-5-il)metoxi]-3-metoxifenil}-2H,4H,5H,6H,7H-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



MS(ES⁺) *m/z* 401.2 (M+H)⁺

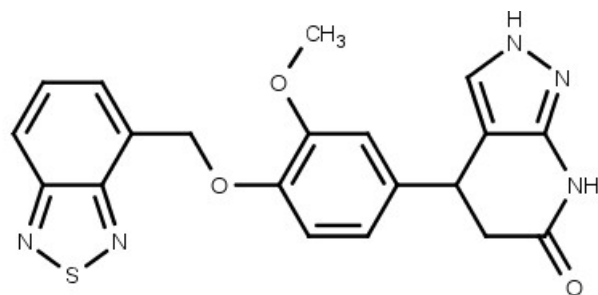
54: 4-{4-[(2-bromo-4,5-dimetoxifenil)metoxi]-3-metoxifenil}-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



MS(ES⁺) *m/z* 488.1 (M+H)⁺

5

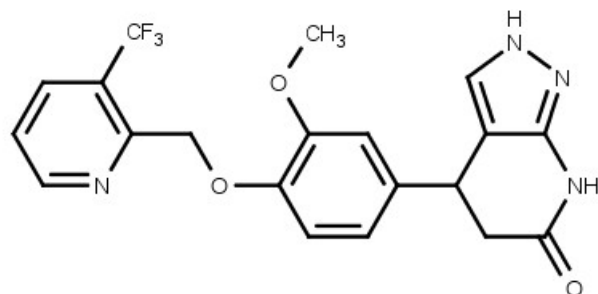
55: 4-{4-[(2,1,3-benzotiadiazol-4-il)metoxi]-3-metoxifenil}-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



MS(ES⁺) *m/z* 408.1 (M+H)⁺

10

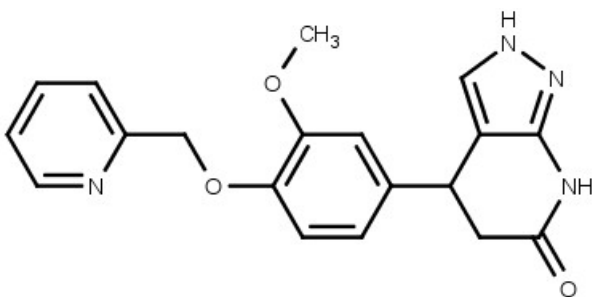
56: 4-(3-metoxi-4-[[3-(trifluorometil)piridin-2-il]metoxi]fenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



MS(ES⁺) *m/z* 419.1 (M+H)⁺

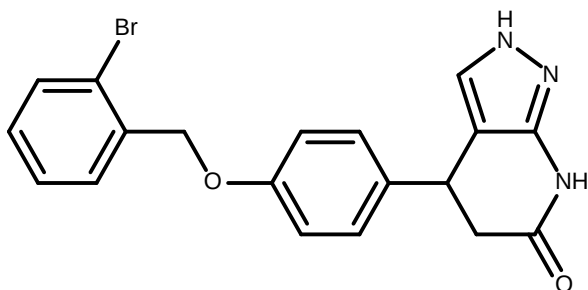
15

57: 4-{3-metoxi-4-[(piridin-2-il)metoxi]fenil}-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



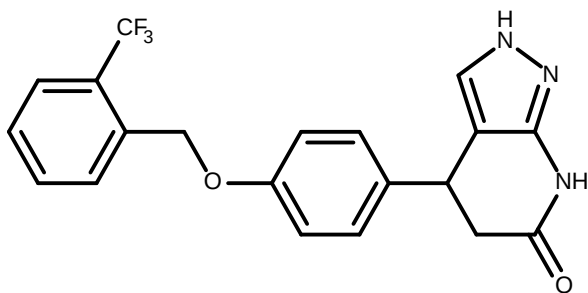
MS(ES⁺) *m/z* 351.1 (M+H)⁺

5 **58:** 4-{4-[(2-bromofenil)metoxi]fenil}-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



MS(ES⁺) *m/z* 398.2 (M+H)⁺

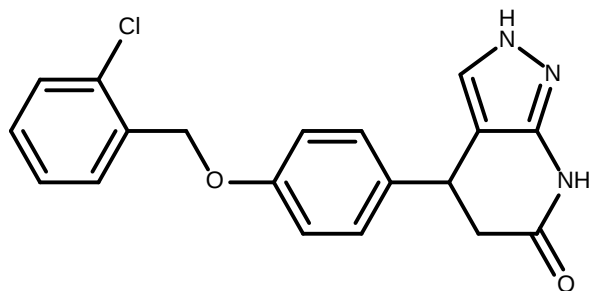
59: 4-{4-[[2-(trifluorometil)fenil]metoxi]fenil}-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



10

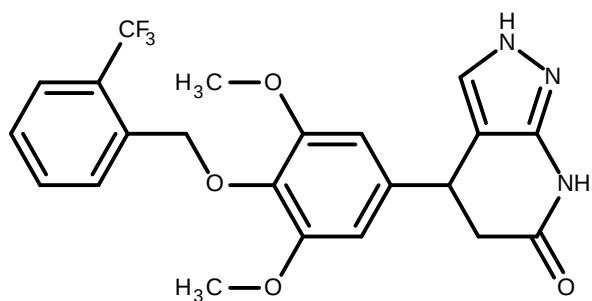
MS(ES⁺) *m/z* 388.2 (M+H)⁺

60: 4-{4-[(2-clorofenil)metoxi]fenil}-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



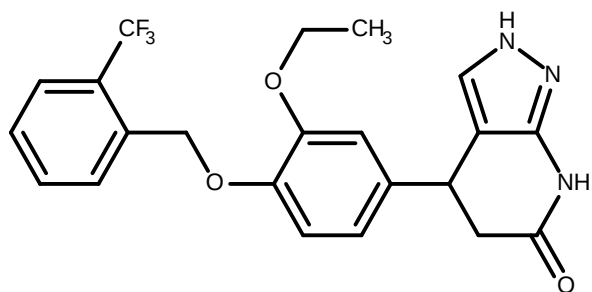
MS(ES⁺) *m/z* 354.2 (M+H)⁺

5 **61:** 4-(3,5-dimetoxi-4-{[2-(trifluorometil)fenil]metoxi}fenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



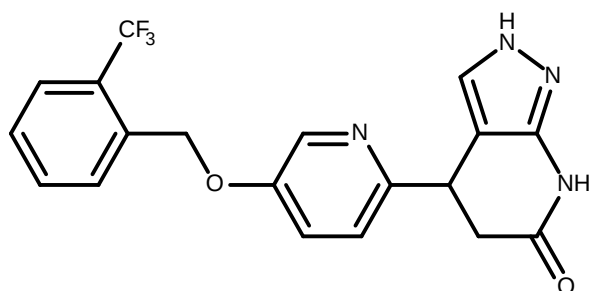
MS(ES⁺) *m/z* 448.2 (M+H)⁺

10 **62:** 4-(3-etoxi-4-{[2-(trifluorometil)fenil]metoxi}fenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



MS(ES⁺) *m/z* 432.2 (M+H)⁺

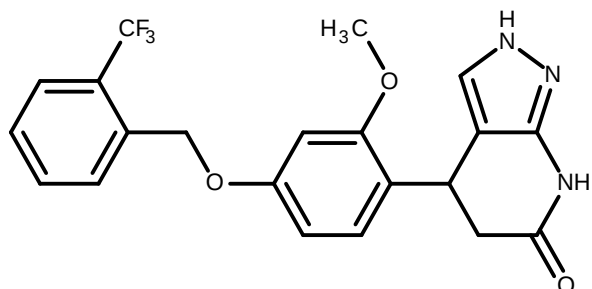
63: 4-(5-([2-(trifluorometil)fenil]metoxi)piridin-2-il)-2H,4H,5H,6H,7H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona



MS(ES⁺) *m/z* 389.2 (M+H)⁺

5

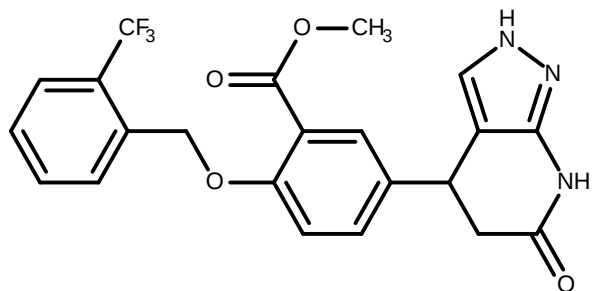
64: 4-(2-metoxi-4-([2-(trifluorometil)fenil]metoxi)fenil)-2H,4H,5H,6H,7H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona



MS(ES⁺) *m/z* 418.2 (M+H)⁺

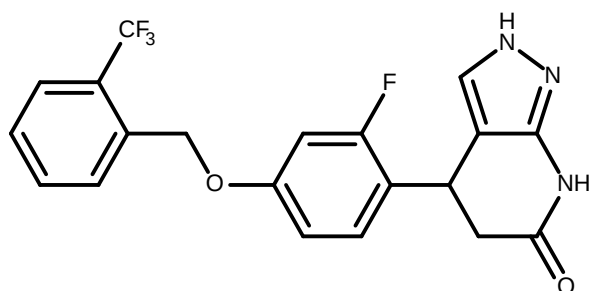
10

65: 5-[6-oxo-2H,4H,5H,6H,7H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il]-2-([2-(trifluorometil)fenil]metoxi)benzoato de metilo



MS(ES⁺) *m/z* 446.2 (M+H)⁺

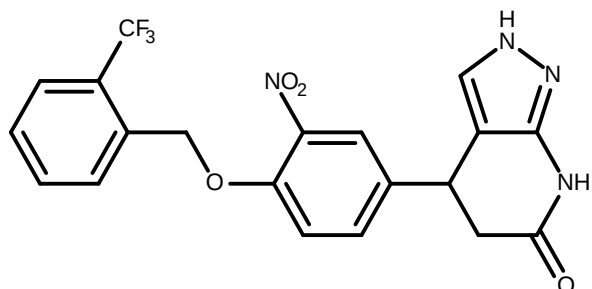
66: 4-(2-fluoro-4-[[2-(trifluorometil)fenil]metoksi]fenil)-2H,4H,5H,6H,7H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona



MS(ES⁺) *m/z* 406.2 (M+H)⁺

5

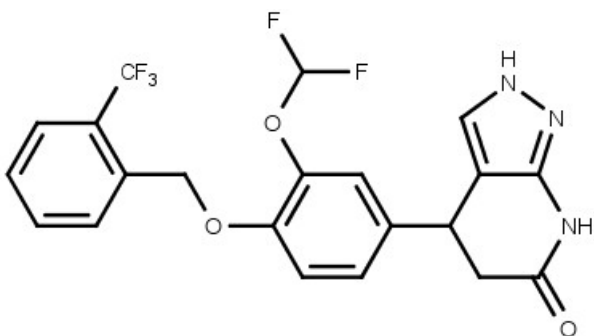
67: 4-(3-nitro-4-[[2-(trifluorometil)fenil]metoksi]fenil)-2H,4H,5H,6H,7H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona



MS(ES⁺) *m/z* 433.2 (M+H)⁺

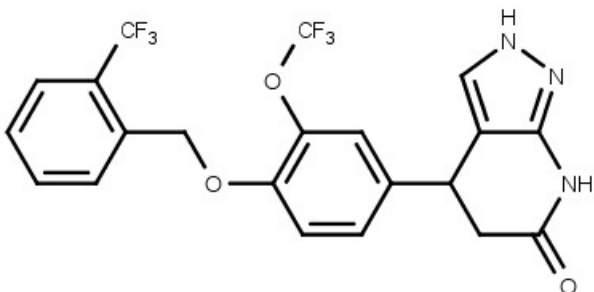
10

68: 4-[3-(difluorometoxi)-4-[[2-(trifluorometil)fenil]metoksi]fenil]-2H,4H,5H,6H,7H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona



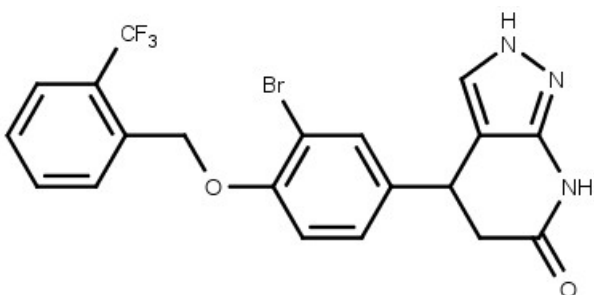
MS(ES⁺) *m/z* 454.1 (M+H)⁺

69: 4-[3-(trifluorometoxi)-4-[[2-(trifluorometil)fenil]metoxi]fenil]-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



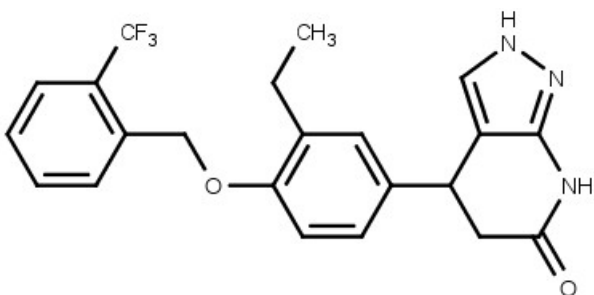
5 MS(ES⁺) *m/z* 472.1 (M+H)⁺

70: 4-(3-bromo-4-[[2-(trifluorometil)fenil]metoxi]fenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



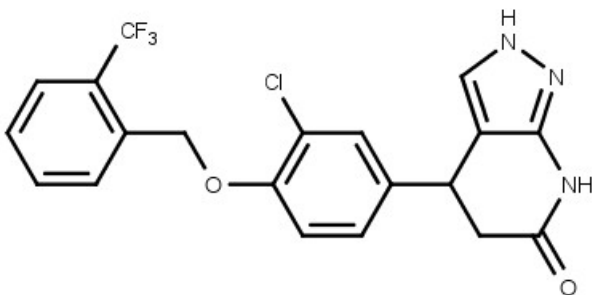
10 MS(ES⁺) *m/z* 466.0 (M+H)⁺

71: 4-(3-etil-4-[[2-(trifluorometil)fenil]metoxi]fenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



15 MS(ES⁺) *m/z* 416.2 (M+H)⁺

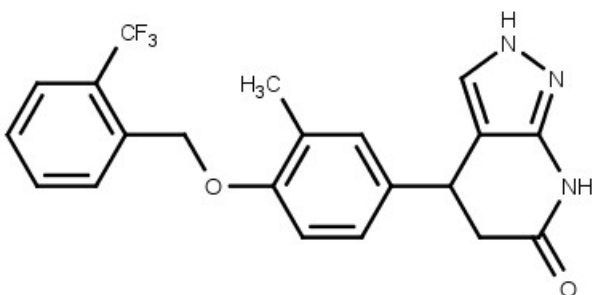
72: 4-(3-cloro-4-[[2-(trifluorometil)fenil]metoxi]fenil)-2H,4H,5H,6H,7H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona



MS(ES⁺) *m/z* 422.1 (M+H)⁺

5

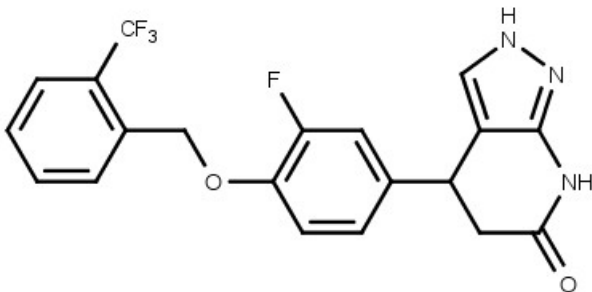
73: 4-(3-metil-4-[[2-(trifluorometil)fenil]metoxi]fenil)-2H,4H,5H,6H,7H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona



MS(ES⁺) *m/z* 402.1 (M+H)⁺

10

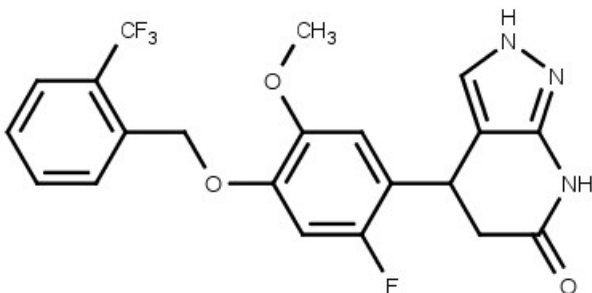
74: 4-(3-fluoro-4-[[2-(trifluorometil)fenil]metoxi]fenil)-2H,4H,5H,6H,7H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona



MS(ES⁺) *m/z* 406.1 (M+H)⁺

15

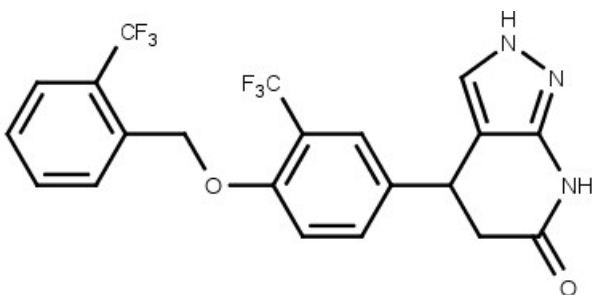
75: 4-(2-fluoro-5-metoxi-4-[[2-(trifluorometil)fenil]metoxi]fenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



MS(ES⁺) *m/z* 436.1 (M+H)⁺

5

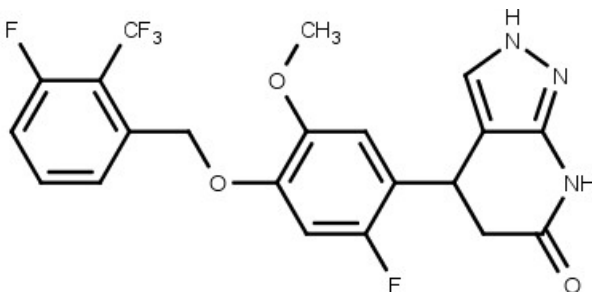
76: 4-[3-(trifluorometil)-4-[[2-(trifluorometil)fenil]metoxi]fenil]-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



MS(ES⁺) *m/z* 456.1 (M+H)⁺

10

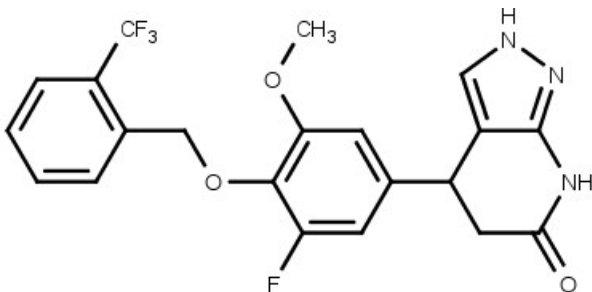
77: 4-(2-fluoro-4-[[3-fluoro-2-(trifluorometil)fenil]metoxi]-5-metoxifenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



MS(ES⁺) *m/z* 454.1 (M+H)⁺

15

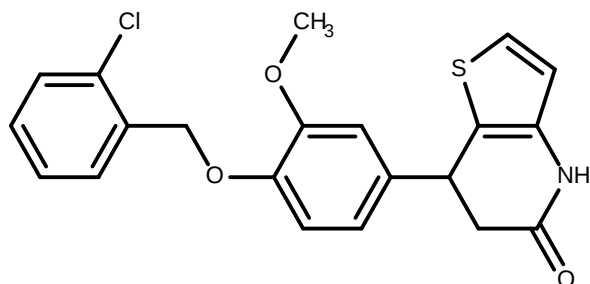
78: 4-(3-fluoro-5-metoxi-4-[[2-(trifluorometil)fenil]metoxi]fenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



MS(ES⁺) *m/z* 436.1 (M+H)⁺

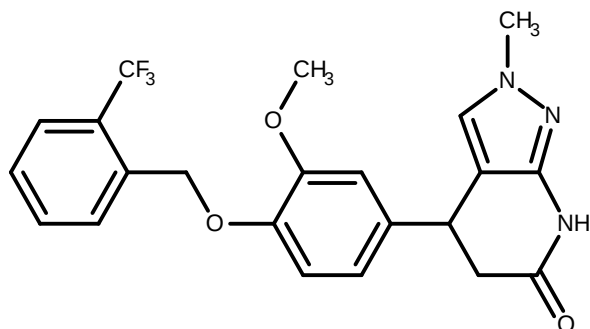
5

79: 7-{4-[(2-clorofenil)metoxi]-3-metoxifenil}-4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-tieno[3,2-*b*]piridin-5-ona



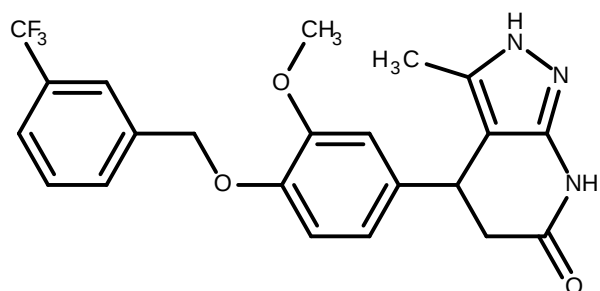
MS(ES⁺) *m/z* 400.2 (M+H)⁺

10 **80:** 4-(3-metoxi-4-[[2-(trifluorometil)fenil]metoxi]fenil)-2-metil-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



MS(ES⁺) *m/z* 432.2 (M+H)⁺

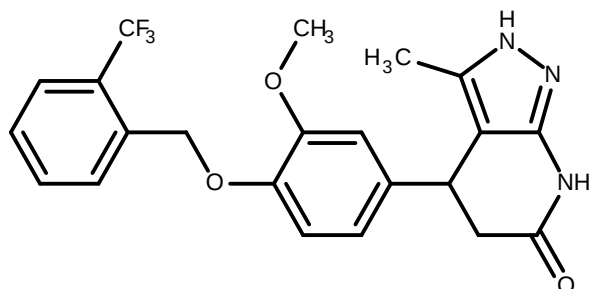
81: 4-(3-metoxi-4-[[3-(trifluorometil)fenil]metoxi]fenil)-3-metil-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



MS(ES⁺) *m/z* 432.2 (M+H)⁺

5

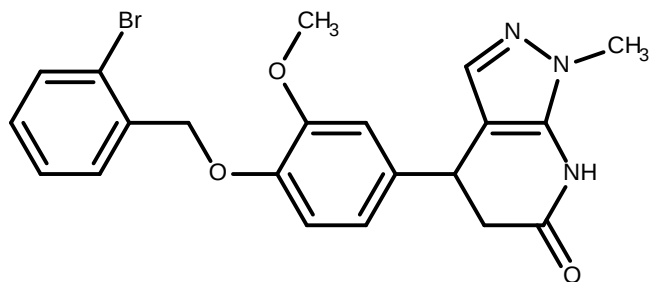
82: 4-(3-metoxi-4-[[2-(trifluorometil)fenil]metoxi]fenil)-3-metil-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



MS(ES⁺) *m/z* 432.2 (M+H)⁺

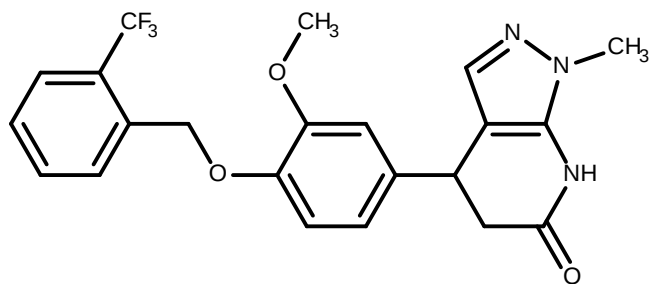
10

83: 4-{4-[(2-bromofenil)metoxi]-3-metoxifenil}-1-metil-1*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



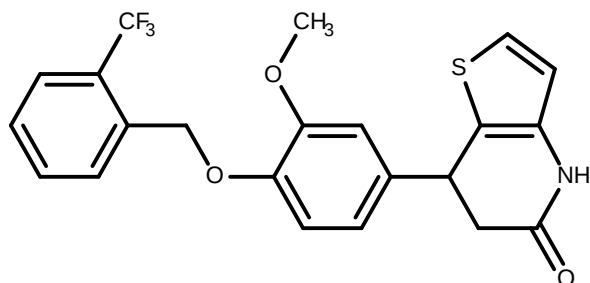
MS(ES⁺) *m/z* 442.2 (M+H)⁺

84: 4-(3-metoxi-4-[[2-(trifluorometil)fenil]metoxi]fenil)-1-metil-1*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



5 MS(ES⁺) *m/z* 432.2 (M+H)⁺

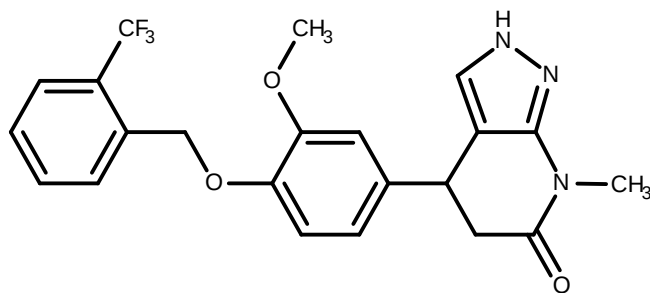
85: 7-(3-metoxi-4-[[2-(trifluorometil)fenil]metoxi]fenil)-4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-tieno[3,2-*b*]piridin-5-ona



MS(ES⁺) *m/z* 434.2 (M+H)⁺

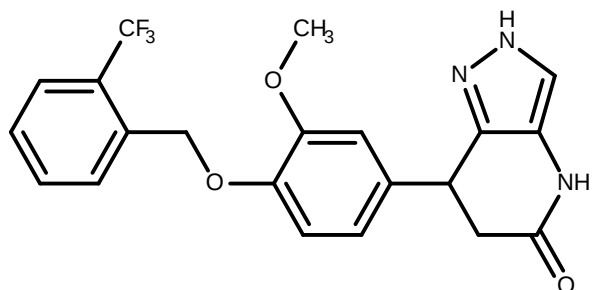
10

86: 4-(3-metoxi-4-[[2-(trifluorometil)fenil]metoxi]fenil)-7-metil-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



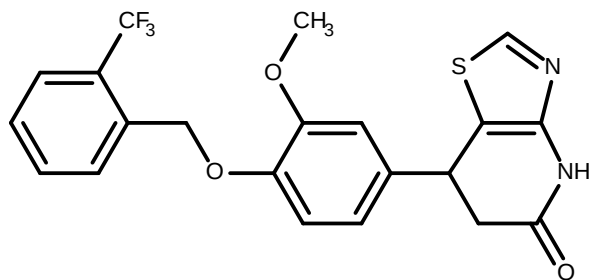
MS(ES⁺) *m/z* 432.2 (M+H)⁺

87: 7-(3-metoxi-4-[[2-(trifluorometil)fenil]metoxi]fenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[4,3-*b*]piridin-5-ona



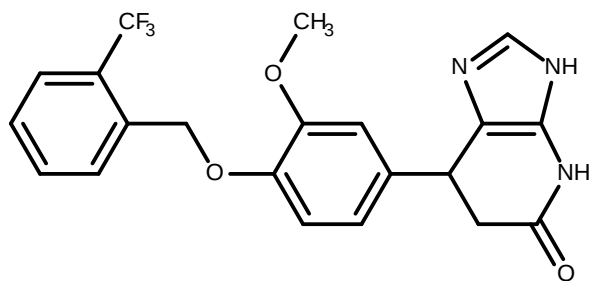
5 MS(ES⁺) *m/z* 418.2 (M+H)⁺

88: 7-(3-metoxi-4-[[2-(trifluorometil)fenil]metoxi]fenil)-4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-[1,3]tiazolo[4,5-*b*]piridin-5-ona



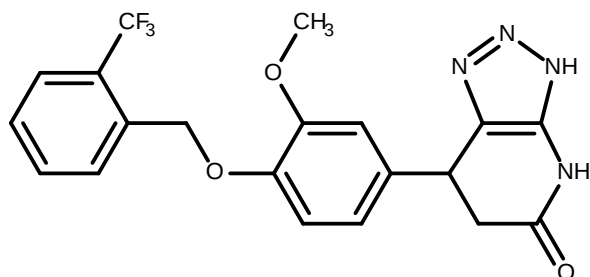
10 MS(ES⁺) *m/z* 435.2 (M+H)⁺

89: 7-(3-metoxi-4-[[2-(trifluorometil)fenil]metoxi]fenil)-3*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-5-ona



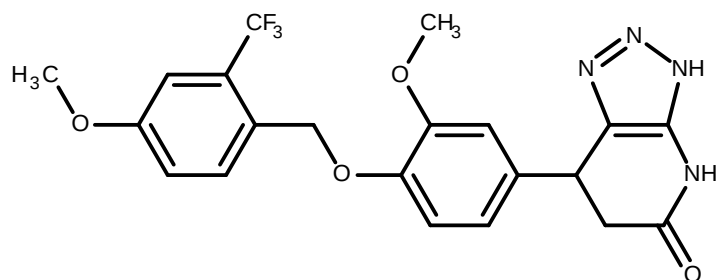
MS(ES^+) m/z 418.2 ($\text{M}+\text{H}^+$)

90: 7-(3-metoxi-4-[[2-(trifluorometil)fenil]metoxi]fenil)-3*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*b*]piridin-5-ona



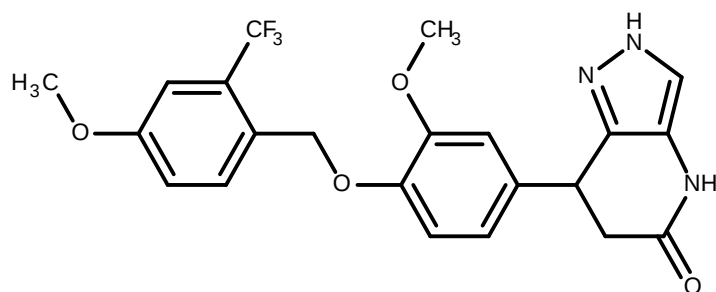
5 MS(ES⁺) *m/z* 419.2 (M+H)⁺

91: 7-(3-metoxi-4-[[4-metoxi-2-(trifluorometil)fenil]metoxi]fenil)-3*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*b*]piridin-5-ona



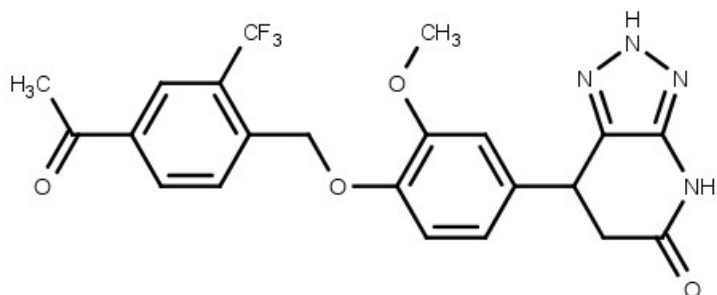
10 MS(ES⁺) *m/z* 449.2 (M+H)⁺

92: 7-(3-metoxi-4-[[4-metoxi-2-(trifluorometil)fenil]metoxi]fenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[4,3-*b*]piridin-5-ona



MS(ES⁺) *m/z* 448.2 (M+H)⁺

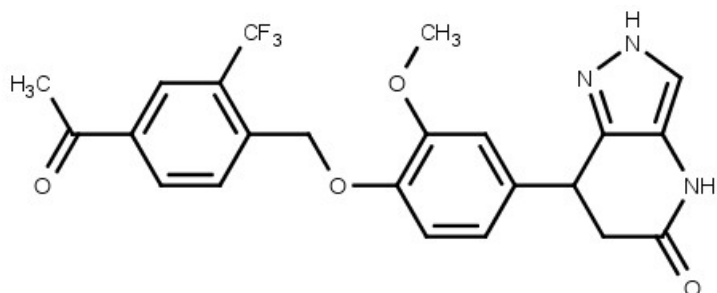
93: 7-(4-([4-acetil-2-(trifluorometil)fenil]metoxi)-3-metoxifenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*b*]piridin-5-ona



5

MS(ES⁺) *m/z* 461.1 (M+H)⁺

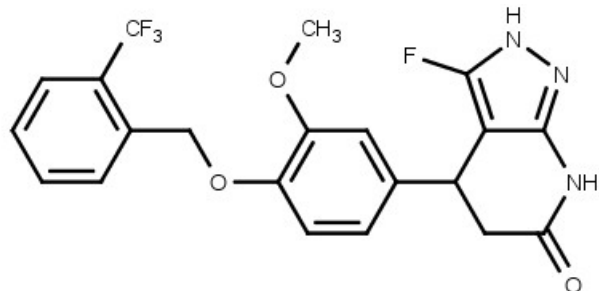
94: 7-(4-([4-acetil-2-(trifluorometil)fenil]metoxi)-3-metoxifenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[4,3-*b*]piridin-5-ona



10

MS(ES⁺) *m/z* 460.1 (M+H)⁺

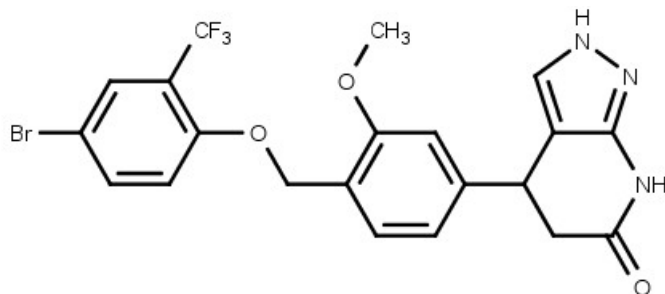
95: 3-fluoro-4-(3-metoxi-4-([2-(trifluorometil)fenil]metoxi)fenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



15

MS(ES⁺) *m/z* 436.1 (M+H)⁺

96: 4-(4-[[4-bromo-2-(trifluorometil)fenoxi]metil]-3-metoxifenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



5 **i)** A una solución de 3-metoxi-4-metil-benzonitrilo (11,55 g) y NBS (16,76 g) en ACN (550 ml) se agregó AIBN (1,29 g). La mezcla de reacción se calentó hasta 85 °C y se agitó durante 4,5 horas. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, la mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida y el producto en bruto resultante se dividió entre agua y EtOAc. La capa acuosa se extrajo dos veces con EtOAc y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se
10 secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron bajo presión reducida. El compuesto luego se purificó en una columna de sílice, usando un gradiente de EtOAc/heptano 0/100 a 18/82 como eluyente, para proporcionar 4-(bromometil)-3-metoxibenzonitrilo (15,3 g).

ii) El producto obtenido en el paso previo (15,3 g) se disolvió en tolueno anhidro bajo atmósfera de nitrógeno y se enfrió hasta 0 °C. Se agregó DiBAL-H (1,2 M en tolueno, 85 ml) por goteo
15 durante 30 minutos y se agitó 1 hora a 0 °C. La reacción se extinguió mediante la adición por goteo de 6N HCl acuoso (46 ml). La reacción se diluyó con agua y el producto se extrajo con EtOAc tres veces. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron bajo presión reducida. El producto en bruto se purificó en una columna de sílice, usando un gradiente de tolueno y EtOAc 100/0 a 80/20, seguido por
20 cromatografía flash en fase inversa, usando un gradiente de ACN/H₂O 45/55 a 60/40 como eluyente, para obtener 4-(bromometil)-3-metoxibenzaldehído (7,35 g).

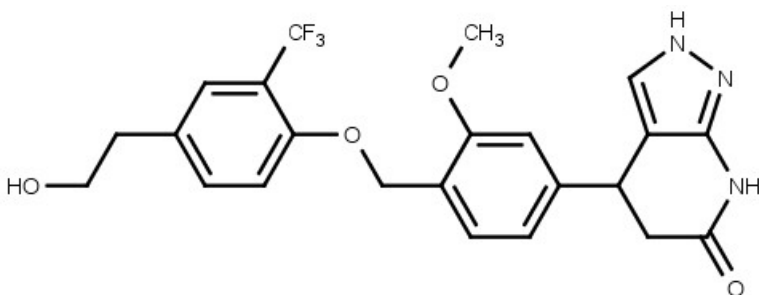
iii) El producto obtenido en el paso previo (2,85 g), 4-bromo-2-(trifluorometil)fenol (3,00 g) y K₂CO₃ (5,16 g) se cargaron en un matraz de 250 ml y se agregó ACN (50 ml). La mezcla de reacción se calentó hasta 70 °C y se agitó durante 1 hora. El acetonitrilo se evaporó y el producto
25 en bruto se dividió entre agua y EtOAc. La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO₄ y se concentró. El producto se suspendió en metanol y los sólidos se filtraron, se lavaron

con metanol y se secaron en el horno de vacío para proporcionar 4-[[4-bromo-2-(trifluorometil)fenoxi]metil]-3-metoxibenzaldehído (4,10 g).

iv) Análogo al procedimiento descrito en el **Ejemplo 1, paso ii**, el compuesto obtenido en el paso anterior se convirtió en 4-(4-[[4-bromo-2-(trifluorometil)fenoxi]metil]-3-metoxifenil)-
5 2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona (3,03 g). MS(ES⁺) *m/z* 496.0 (M+H)⁺.

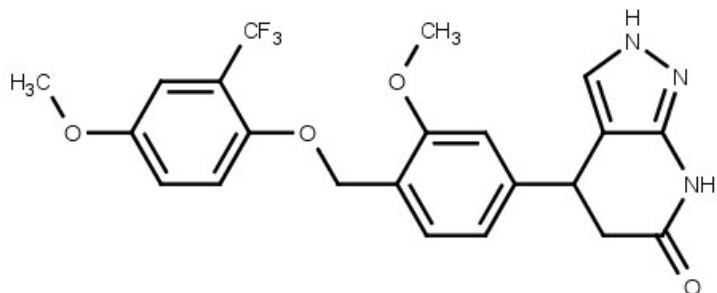
Siguiendo un procedimiento análogo al descrito para el ejemplo **96, pasos i) a iv)**, usando materiales iniciales apropiados, se prepararon los siguientes compuestos.

97: 4-(4-[[4-(2-hidroxietil)-2-(trifluorometil)fenoxi]metil]-3-metoxifenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-
10 pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



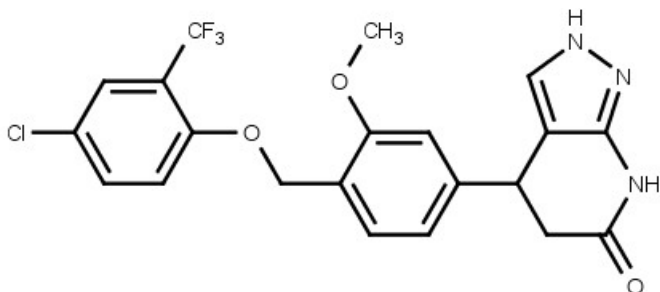
MS(ES⁺) *m/z* 462.2 (M+H)⁺

98: 4-(3-metoxi-4-[[4-metoxi-2-(trifluorometil)fenoxi]metil]fenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-
15 pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



MS(ES⁺) *m/z* 448.1 (M+H)⁺

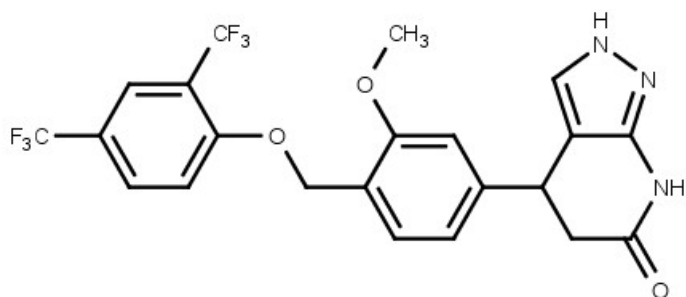
99: 4-(4-[[4-cloro-2-(trifluorometil)fenoxi]metil]-3-metoxifenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



MS(ES⁺) *m/z* 452.1 (M+H)⁺

5

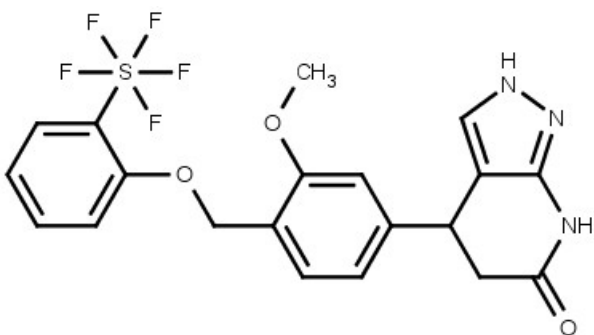
100: 4-(4-[[2,4-bis(trifluorometil)fenoxi]metil]-3-metoxifenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



MS(ES⁺) *m/z* 486.1 (M+H)⁺

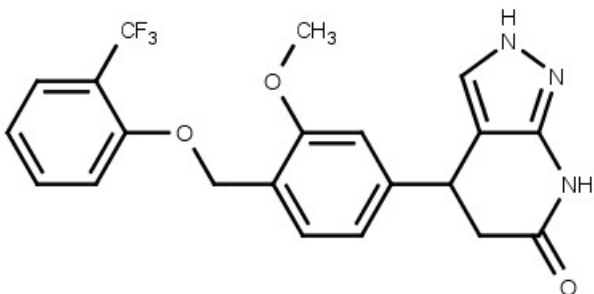
10

101: 4-(3-metoxi-4-[[2-(pentafluoro-λ⁶-sulfanil)fenoxi]metil]fenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



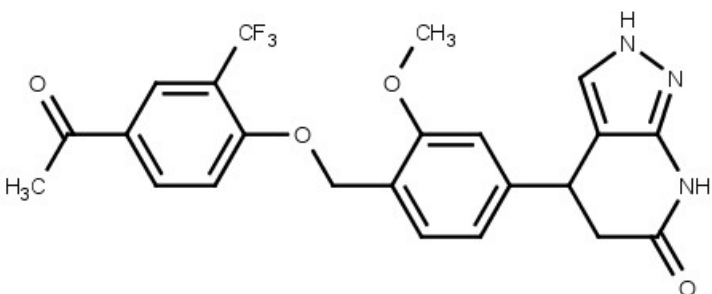
MS(ES⁺) *m/z* 476.1 (M+H)⁺

102: 4-(3-metoxi-4-[[2-(trifluorometil)fenoxi]metil]fenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



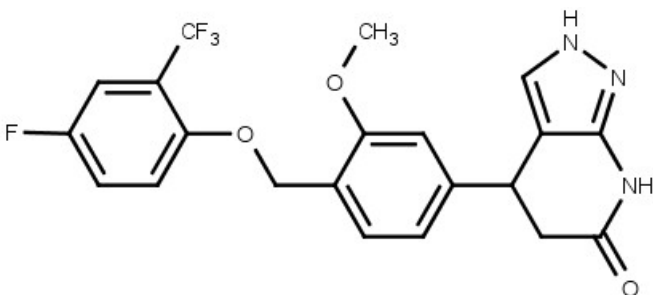
5 MS(ES⁺) *m/z* 418.1 (M+H)⁺

103: 4-(4-[[4-acetil-2-(trifluorometil)fenoxi]metil]-3-metoxifenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



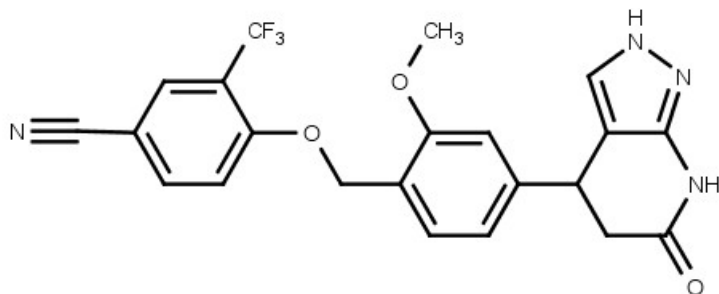
10 MS(ES⁺) *m/z* 460.1 (M+H)⁺

104: 4-(4-[[4-fluoro-2-(trifluorometil)fenoxi]metil]-3-metoxifenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



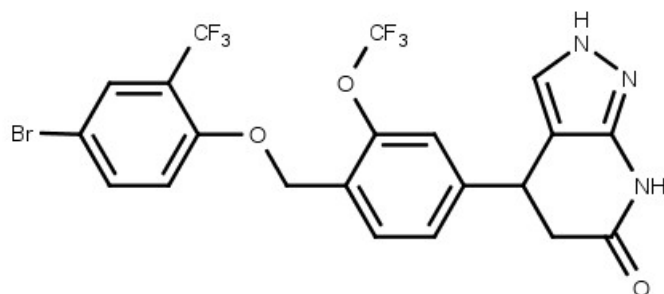
15 MS(ES⁺) *m/z* 436.1 (M+H)⁺

105: 4-[(2-metoxi-4-{6-oxo-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-4-il}fenil)metoxi]-3-(trifluorometil)benzonitrilo



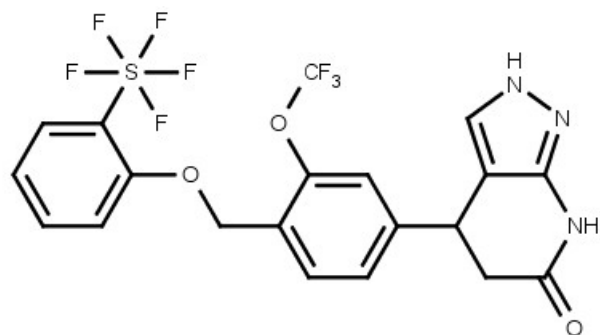
5 MS(ES⁺) *m/z* 443.1 (M+H)⁺

106: 4-(4-[[4-bromo-2-(trifluorometil)fenoxi]metil]-3-(trifluorometoxi)fenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



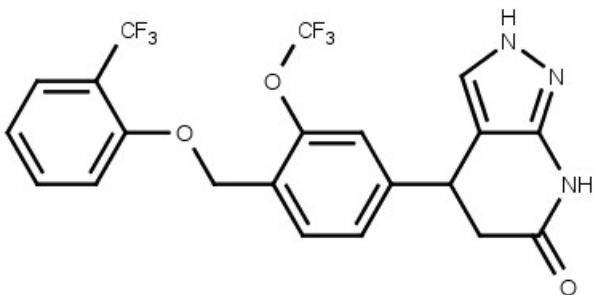
10 MS(ES⁺) *m/z* 550.0 (M+H)⁺

107: 4-(4-[[2-(pentafluoro-λ⁶-sulfanil)fenoxi]metil]-3-(trifluorometoxi)fenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



MS(ES⁺) *m/z* 530.1 (M+H)⁺

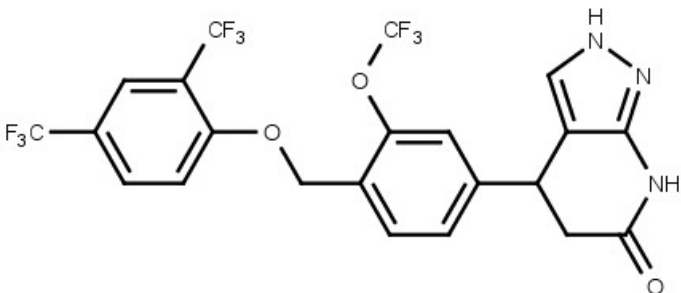
108: 4-[3-(trifluorometoxi)-4-[[2-(trifluorometil)fenoxi]metil]fenil]-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



5

MS(ES⁺) *m/z* 472.1 (M+H)⁺

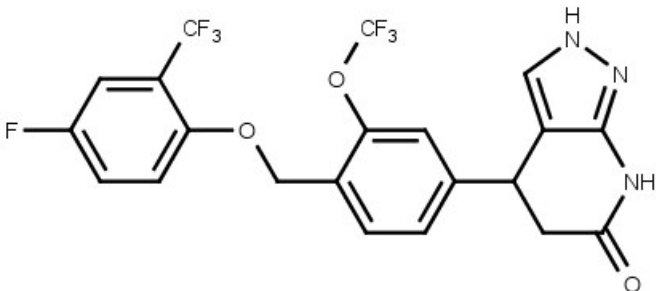
109: 4-(4-[[2,4-bis(trifluorometil)fenoxi]metil]-3-(trifluorometoxi)fenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



10

MS(ES⁺) *m/z* 540.1 (M+H)⁺

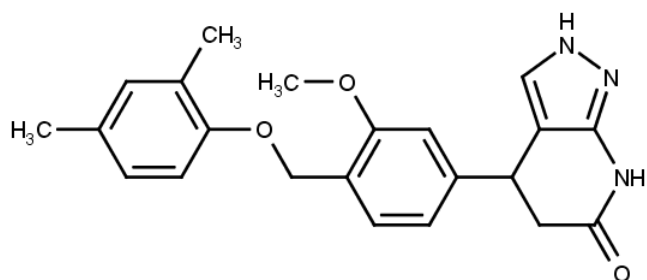
110: 4-(4-[[4-fluoro-2-(trifluorometil)fenoxi]metil]-3-(trifluorometoxi)fenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



15

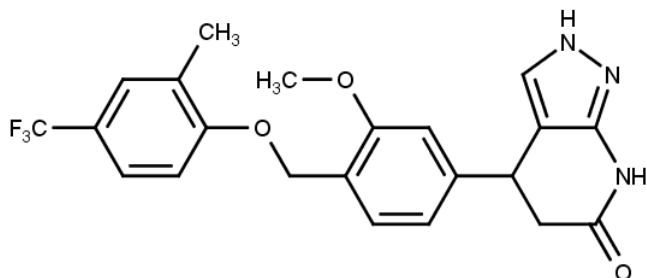
MS(ES⁺) *m/z* 490.1 (M+H)⁺

111: 4-{4-[(2,4-dimetilfenoksi)metil]-3-metoxifenil}-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



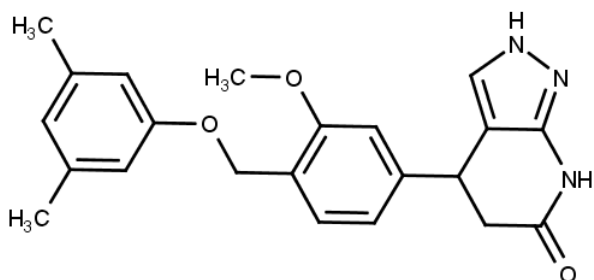
5 MS(ES⁺) *m/z* 378.4 (M+H)⁺

112: 4-(3-metoxi-4-{[2-metil-4-(trifluorometil)fenoksi]metil}fenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



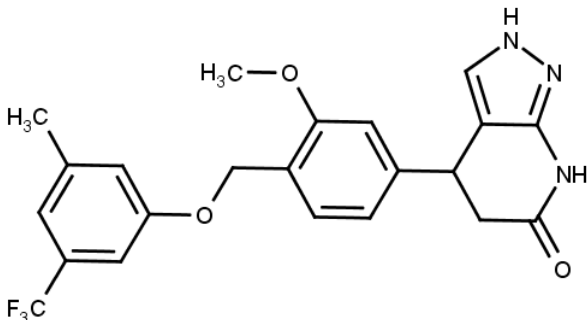
10 MS(ES⁺) *m/z* 432.4 (M+H)⁺

113: 4-{4-[(3,5-dimetilfenoksi)metil]-3-metoxifenil}-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



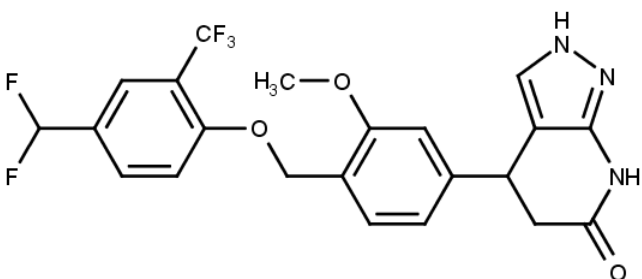
MS(ES⁺) *m/z* 378.4 (M+H)⁺

114: 4-(3-metoxi-4-{{3-metil-5-(trifluorometil)fenoxi}metil}fenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo [3,4-*b*]piridin-6-ona



5 MS(ES⁺) *m/z* 432.4 (M+H)⁺

115: 4-(4-{{4-(difluorometil)-2-(trifluorometil)fenoxi}metil}-3-metoxifenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo [3,4-*b*]piridin-6-ona



10 **i)** El producto obtenido en el **Ejemplo 96 paso i** (14,13 g), 4-hidroxi-3-(trifluorometil)benzaldehído (11,88 g) y K₂CO₃ (17,28 g) se suspendieron en ACN (400 ml) y se calentaron hasta 70 °C durante 2.5 horas. El solvente se evaporó en un evaporador giratorio, el producto en bruto se suspendió en agua y los sólidos se filtraron. Los sólidos se lavaron con EtOAc dos veces y se secaron en el horno de vacío a 40 °C para proporcionar 4-[[4-formil-2-(trifluorometil)fenoxi]metil]-3-metoxi-benzonitrilo (19,49 g).

15 **ii)** El producto obtenido en el paso previo (19,49 g) se suspendió en DCM (400 ml) bajo atmósfera de nitrógeno. Se agregó DAST (23 ml) por goteo y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 5 días. Durante estos días, la reacción se volvió una solución. La reacción se colocó en un baño de agua y se agregó cuidadosamente NaHCO₃ acuoso saturado hasta que no se produjo más gas. El producto se extrajo con DCM tres veces y las capas orgánicas combinadas se

secaron sobre MgSO_4 y se concentraron. El producto se cargó sobre Celite y se purificó en una columna de sílice, usando un gradiente de DCM/heptano 40/60 a 70/30, para proporcionar 4-[[4-(difluorometil)-2-(trifluorometil)fenoxi]metil]-3-metoxi-benzonitrilo (19,4 g).

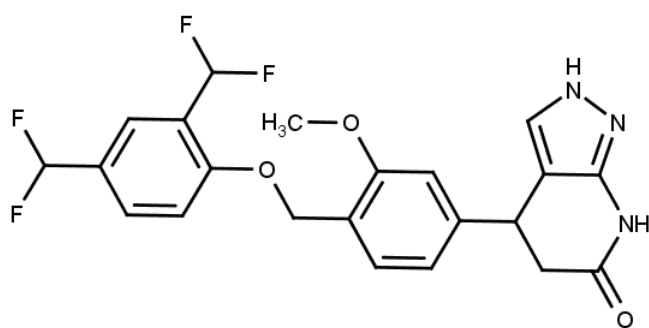
5 **iii)** El producto obtenido en el paso previo (19,40 g, 51,6 mmol, 1 equiv.) se suspendió en tolueno (427,5 ml) bajo atmósfera de nitrógeno. La reacción se enfrió hasta 0 °C y se agregó DiBAL-H (64 ml, 1,2 M en tolueno) por goteo durante 35 minutos. Durante la adición del DiBAL-H, la reacción se tornó transparente y color amarillo claro. Luego de la adición, la reacción se agitó durante 1,5 horas a 0 °C. Se agregó 6M HCl acuoso (36 ml) por goteo, seguido por la adición de agua. El producto se extrajo con EtOAc tres veces y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO_4 y se concentraron para proporcionar 4-[[4-(difluorometil)-2-(trifluorometil)fenoxi]metil]-3-metoxi-benzaldehído (19,23 g).

10 **iv)** Análogo al procedimiento descrito en el **Ejemplo 1, paso ii**, el compuesto obtenido en el paso anterior se convirtió en 4-(4-[[4-(difluorometil)-2-(trifluorometil)fenoxi]metil]-3-metoxifenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-
15 *b*]piridin-6-ona (9,7 g). MS(ES^+) m/z 468.4 ($\text{M}+\text{H}$)⁺.

Siguiendo un procedimiento análogo al descrito para el ejemplo **115**, usando materiales iniciales apropiados, se prepararon los siguientes compuestos.

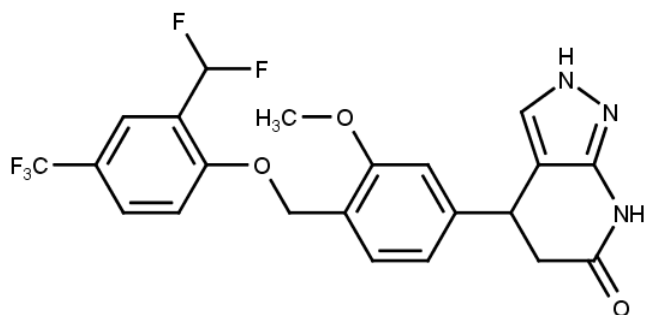
116:

20 4-(4-[[2,4-bis(difluorometil)fenoxi]metil]-3-metoxifenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



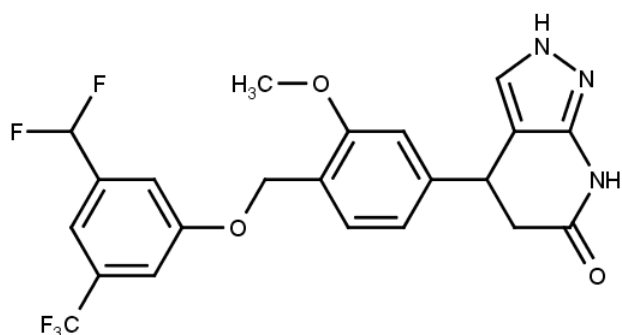
MS(ES^+) m/z 450.4 ($\text{M}+\text{H}$)⁺

117: 4-(4-[[2-(difluorometil)-4-(trifluorometil)fenoxi]metil]-3-metoxifenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



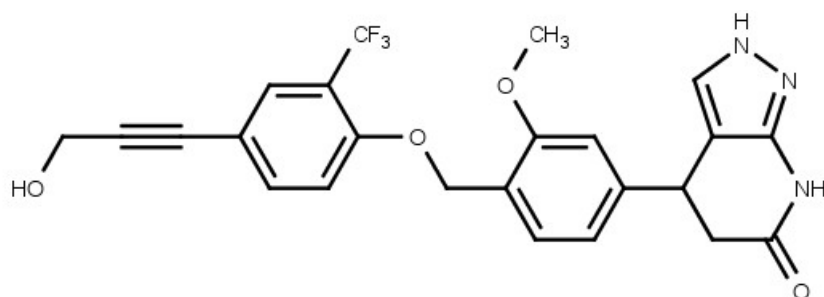
MS(ES⁺) *m/z* 468.4 (M+H)⁺

118: 4-(4-([3-(difluorometil)-5-(trifluorometil)fenoxi]metil)-3-metoxifenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



MS(ES⁺) *m/z* 468.4 (M+H)⁺

119: 4-(4-([4-(3-hidroxi-prop-1-in-1-il)-2-(trifluorometil)fenoxi]metil)-3-metoxifenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona

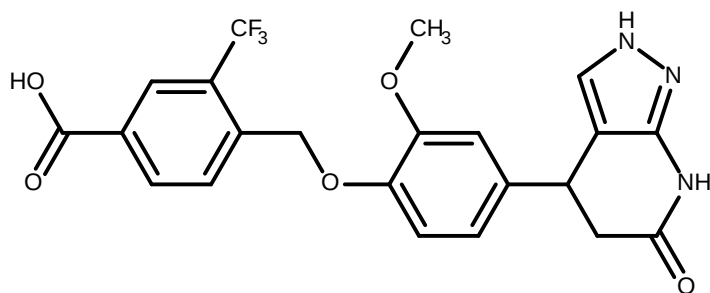


i) El intermediario obtenido en el **Ejemplo 96, paso iii** (1,00 g) se disolvió en THF (10 ml) junto con CuI (0,05 g) y DBU (0,46 ml). La mezcla de reacción se desgasificó burbujeando nitrógeno a través de ella durante 15 minutos. Luego se agregó Pd(PPh₃)₄ (0.30 g) y alcohol propargílico (0.18 ml) y el vial se selló. La reacción se agitó durante 16 horas a 60 °C en el microondas. La mezcla

de reacción se diluyó con EtOAc y se filtró sobre Celite. El filtrado se concentró y el residuo se tomó en EtOAc y se lavó con H₂O/salmuera y salmuera secuencialmente. La capa orgánica se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró. El producto en bruto se disolvió en DCM, se cargó sobre Celite y se purificó por cromatografía flash, usando un gradiente de EtOAc/heptano 20/80 a 80/20 como eluyente, para obtener 4-[[4-(3-hidroxiprop-1-in-1-il)-2-(trifluorometil)fenoxi]metil]-3-metoxibenzaldehído en forma de polvo beige (0,81 g).

ii) Análogo al procedimiento descrito en el **Ejemplo 1, paso ii)**, el compuesto obtenido en el paso anterior se convirtió en 4-(4-[[4-(3-hidroxiprop-1-in-1-il)-2-(trifluorometil)fenoxi]metil]-3-metoxifenil)-2H,4H,5H,6H,7H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona (8 mg). MS(ES⁺) *m/z* 472.4 (M+H)⁺

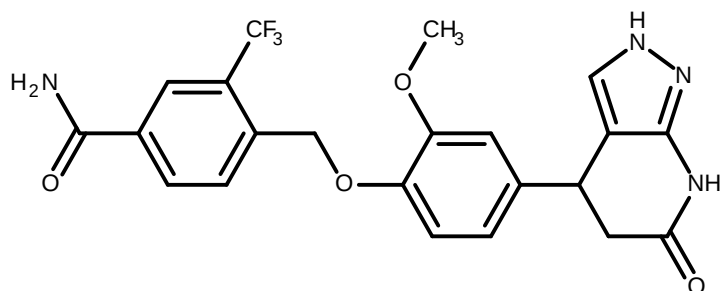
120: ácido 4-(2-metoxi-4-{6-oxo-2H,4H,5H,6H,7H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il}fenoximetil)-3-(trifluorometil)benzoico



i) El **Ejemplo 42** (3,0 g) se suspendió en THF (30 ml) y se agregó una solución de LiOH (0,45 g) en agua (15 ml). La solución amarilla resultante se agitó hasta el día siguiente a temperatura ambiente. El THF se evaporó, lo cual causó la precipitación del producto. La suspensión acuosa se filtró y los sólidos se lavaron con agua, ACN dos veces y Et₂O secuencialmente. El residuo se secó en el horno de vacío para proporcionar 4-(2-metoxi-4-{6-oxo-2H,4H,5H,6H,7H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il}fenoximetil)-3-(trifluorometil)benzoato de litio (2,32 g) en forma de polvo blanco.

ii) El compuesto obtenido en el paso anterior (50 mg) se suspendió en agua (10 ml) y se agregó 2M HCl acuoso (2 ml). La suspensión resultante se agitó vigorosamente durante 30 minutos, y luego se filtró. El residuo se lavó con agua, ACN (2x) y Et₂O, luego se secó al vacío para proporcionar ácido 4-(2-metoxi-4-{6-oxo-2H,4H,5H,6H,7H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il}fenoximetil)-3-(trifluorometil)benzoico (34 mg) en forma de polvo blanco. MS(ES⁺) *m/z* 462.2 (M+H)⁺

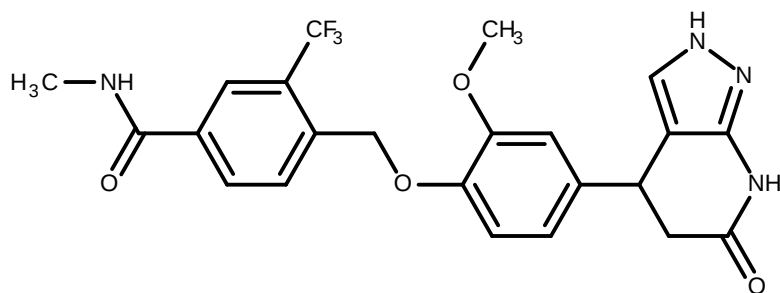
121: 4-(2-metoxi-4-{6-oxo-2H,4H,5H,6H,7H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il}fenoximetil)-3-(trifluorometil)benzamida



i) El producto obtenido en el **Ejemplo 120, paso i)** (50 mg) se disolvió en DMF (0,5 ml) junto con NH_4Cl (12 mg), EDC (25 mg), TEA (45 μL) y HOBt (20 mg). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente hasta el día siguiente. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc y agua y se agitó vigorosamente. Se obtuvo una suspensión, la cual se filtró. El residuo se lavó con agua, ACN dos veces y Et_2O secuencialmente, luego se secó en el horno de vacío para proporcionar 4-(2-metoxi-4-{6-oxo-2H,4H,5H,6H,7H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il}fenoximetil)-3-(trifluorometil)benzamida (25 mg) en forma de polvo blanco. MS(ES^+) m/z 461.2 ($\text{M}+\text{H}^+$)

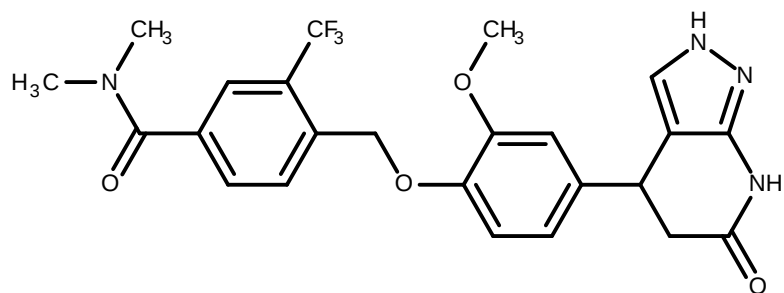
Seguendo un procedimiento análogo al descrito para el ejemplo **121**, usando materiales iniciales apropiados y solventes, se prepararon los siguientes compuestos.

122: 4-(2-metoxi-4-{6-oxo-2H,4H,5H,6H,7H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il}fenoximetil)-N-metil-3-(trifluorometil)benzamida



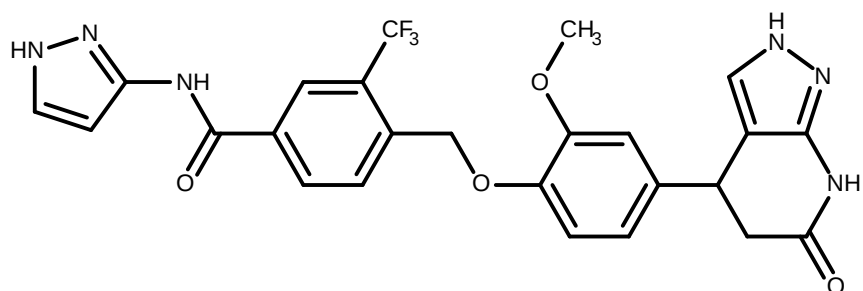
MS(ES^+) m/z 475.2 ($\text{M}+\text{H}^+$)

123: 4-(2-metoxi-4-{6-oxo-2H,4H,5H,6H,7H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il}fenoximetil)-N,N-dimetil-3-(trifluorometil)benzamida



MS(ES⁺) *m/z* 489.2 (M+H)⁺

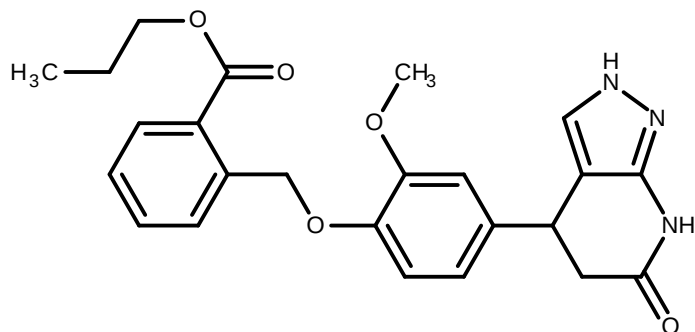
124: 4-(2-metoxi-4-{6-oxo-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-4-il}fenoximetil)-*N*-(1*H*-pirazol-3-il)-3-(trifluorometil)benzamida



MS(ES⁺) *m/z* 527.2 (M+H)⁺

5

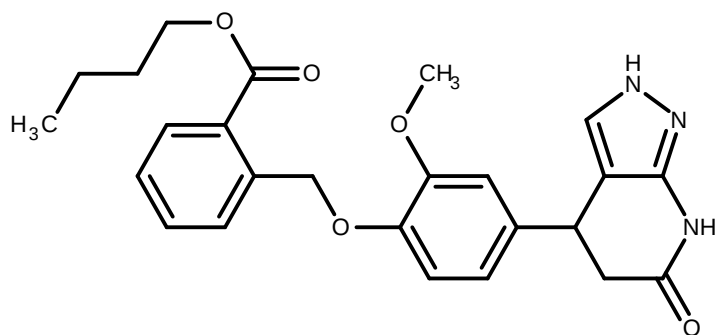
125: 2-(2-metoxi-4-{6-oxo-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-4-il}fenoximetil)benzoato de propilo



MS(ES⁺) *m/z* 436.2 (M+H)⁺

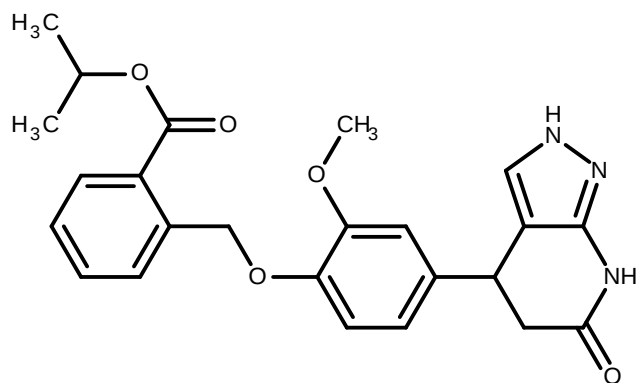
10

126: 2-(2-metoxi-4-{6-oxo-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-4-il}fenoximetil)benzoato de butilo



MS(ES⁺) *m/z* 450.2 (M+H)⁺

127: 2-(2-metoxi-4-{6-oxo-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-4-il}fenoximetil)benzoato de propan-2-ilo



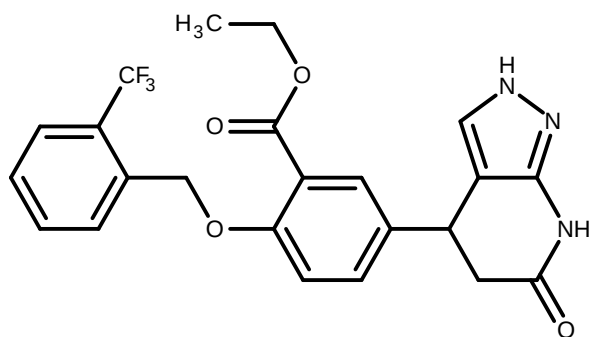
5

MS(ES⁺) *m/z* 436.2 (M+H)⁺

Seguendo un procedimiento análogo al descrito para los ejemplos **120** y **121**, usando el **Ejemplo 65** como material inicial y reactivos y solventes apropiados, se prepararon los siguientes compuestos.

10

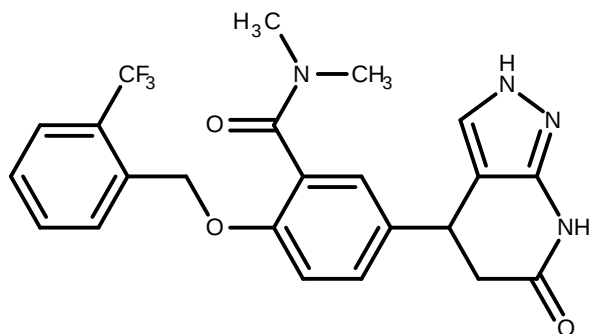
128: 5-{6-oxo-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-4-il}-2-[[2-(trifluorometil)fenil]metoxi]benzoato de etilo



MS(ES⁺) *m/z* 460.2 (M+H)⁺

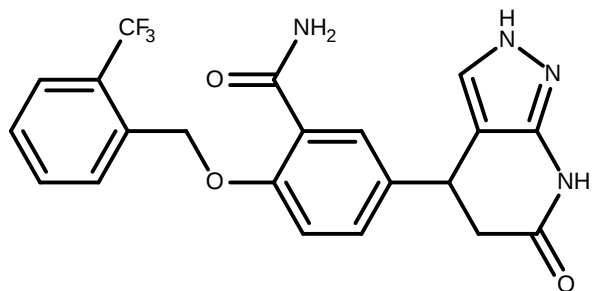
15

129: *N,N*-dimetil-5-{6-oxo-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-4-il}-2-[[2-(trifluorometil)fenil]metoxi]benzamida



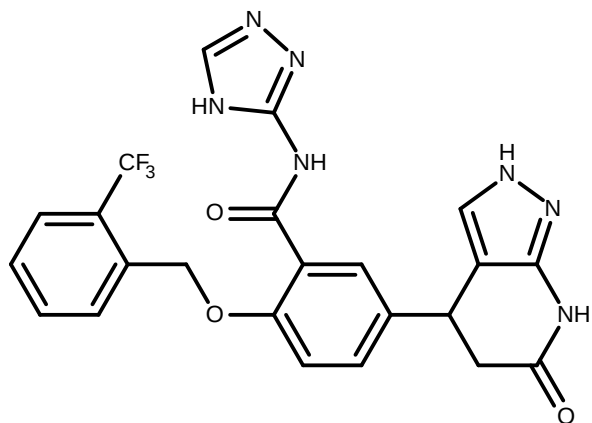
MS(ES⁺) *m/z* 459.2 (M+H)⁺

130: 5-{6-oxo-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-4-il}-2-[[2-(trifluorometil)fenil]metoxi}benzamida



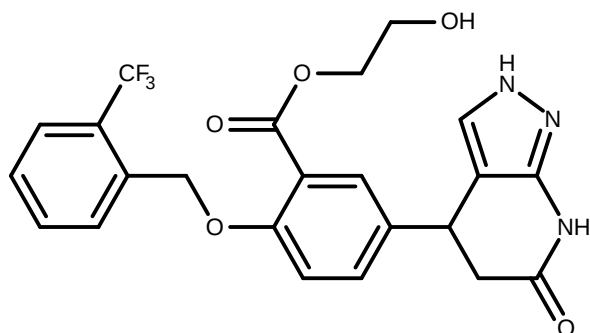
MS(ES⁺) *m/z* 431.2 (M+H)⁺

131: 5-{6-oxo-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-4-il}-*N*-(4*H*-1,2,4-triazol-3-il)-2-[[2-(trifluorometil)fenil]metoxi}benzamida



MS(ES⁺) *m/z* 498.2 (M+H)⁺

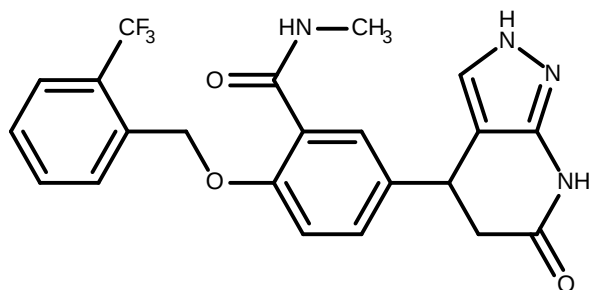
132: 5-{6-oxo-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-4-il}-2-[[2-(trifluorometil)fenil]metoxi]benzoato de 2-hidroxi etilo



5

MS(ES⁺) *m/z* 476.2 (M+H)⁺

133: *N*-metil-5-{6-oxo-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-4-il}-2-[[2-(trifluorometil)fenil]metoxi]benzamida

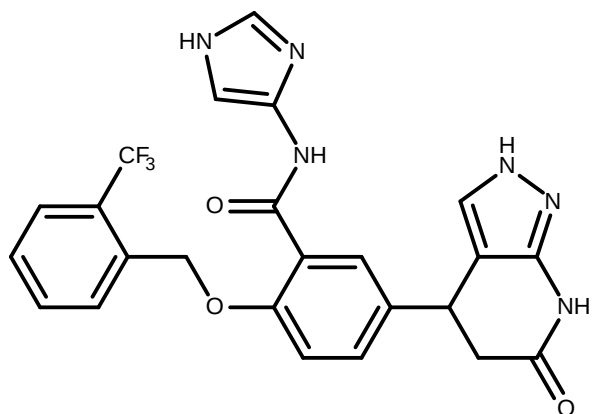


10

MS(ES⁺) *m/z* 445.2 (M+H)⁺

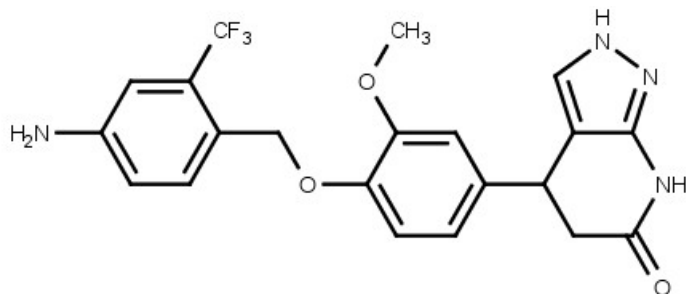
134: *N*-(1*H*-imidazol-4-il)-5-{6-oxo-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-4-il}-2-[[2-(trifluorometil)fenil]metoxi]benzamida

15



MS(ES⁺) m/z 497.2 (M+H)⁺

135: 4-(4-[[4-amino-2-(trifluorometil)fenil]metoxi]-3-metoxifenil)-2H,4H,5H,6H,7H-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



i) 4-metil-3-(trifluorometil)-anilina (4,88 g) se disolvió en 1,4-dioxano (15 ml) y se agregó K₂CO₃ acuoso saturado (15 ml). Luego se agregó Boc₂O (7,40 g) y la reacción se agitó hasta el día siguiente a temperatura ambiente. El producto se extrajo con EtOAc tres veces y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron para proporcionar 8,89 g de *N*-[4-metil-3-(trifluorometil)fenil]carbamato de *ter*-butilo.

ii) Análogo al procedimiento descrito en el **Ejemplo 96, paso i)**, el producto obtenido en el paso anterior se convirtió en *N*-[4-(bromometil)-3-(trifluorometil)fenil]carbamato de *ter*-butilo (9,01 g).

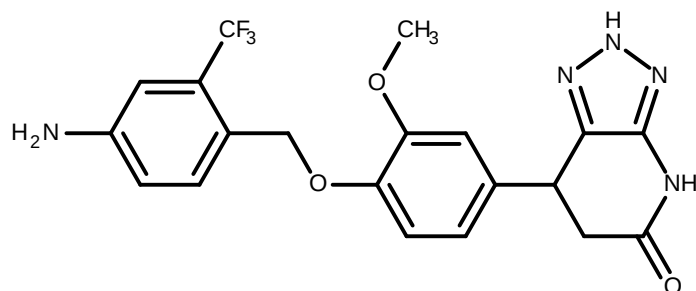
iii) Análogo a los procedimientos descritos en el **Ejemplo 1, paso i)**, el producto obtenido en el paso anterior se convirtió en *N*-{4-[(4-formil-2-metoxifenoxi)metil]-3-(trifluorometil)fenil}carbamato de *ter*-butilo.

iv) Análogo al procedimiento descrito en el **Ejemplo 1, paso ii)**, el producto obtenido en el paso anterior se convirtió en *N*-{4-[(2-metoxi-4-{6-oxo-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-4-il}fenoxi)metil]-3-(trifluorometil)fenil}carbamato de *ter*-butilo.

v) El producto obtenido (93 mg) en el paso previo se disolvió en DCM (1 ml) y se burbujeó gas HCl a través hasta que el producto se precipitó. La mezcla de reacción se agitó durante 20 minutos más y luego se concentró bajo presión reducida. El residuo obtenido se suspendió en NaHCO₃ acuoso y se agitó durante 5 minutos, luego los sólidos se filtraron y se lavaron con agua. El producto en bruto se disolvió en ACN/MeOH y se purificó por HPLC preparativa para proporcionar 4-(4-{[4-amino-2-(trifluorometil)fenil]metoxi}-3-metoxifenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona en forma de polvo blanco (21 mg). MS(ES⁺) *m/z* 433.4 (M+H)⁺

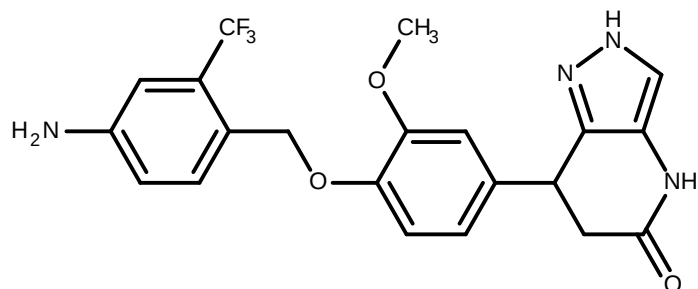
Siguiendo un procedimiento análogo al descrito para el ejemplo **135**, usando materiales iniciales apropiados y solventes, se prepararon los siguientes compuestos.

136: 7-(4-{[4-amino-2-(trifluorometil)fenil]metoxi}-3-metoxifenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*b*]piridin-5-ona



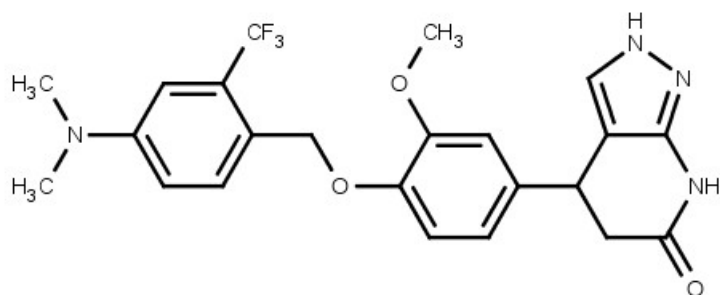
MS(ES⁺) *m/z* 434.2 (M+H)⁺

137: 7-(4-{[4-amino-2-(trifluorometil)fenil]metoxi}-3-metoxifenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[4,3-*b*]piridin-5-ona



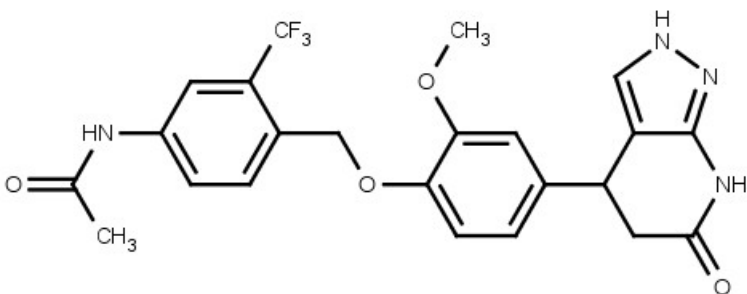
MS(ES⁺) *m/z* 433.2 (M+H)⁺

138: 4-(4-[[4-(dimetilamino)-2-(trifluorometil)fenil]metoxi]-3-metoxifenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-
5 pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



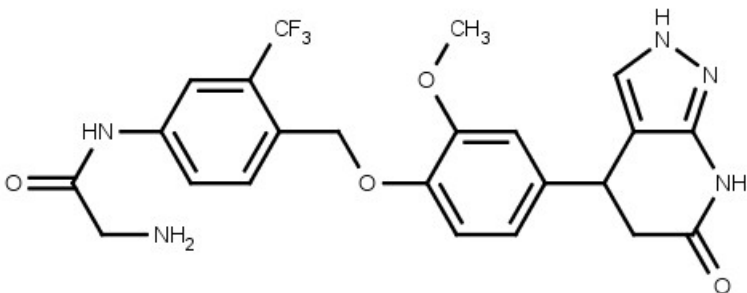
i) A una solución del **Ejemplo 135** (25 mg) en ácido acético (1 ml) se agregó 43 µL de solución de formaldehído (37% en agua), seguido por la adición en porciones de cianoborohidruro de sodio (11 mg). Luego de 40 minutos, la mezcla de reacción se concentró y el aceite obtenido se
10 alcalinizó con K₂CO₃ acuoso, lo cual causó una precipitación blanca. La suspensión se extrajo con DCM dos veces y las capas orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron. El producto en bruto se purificó por HPLC preparativa (gradiente isocrático 40% ACN/H₂O) para obtener 3 mg de 4-(4-[[4-(dimetilamino)-2-(trifluorometil)fenil]metoxi]-3-metoxifenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona. MS(ES⁺) *m/z* 461.2 (M+H)⁺

139: *N*-{4-[(2-metoxi-4-{6-oxo-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-4-il}fenoxi)metil]-3-(trifluorometil)fenil}acetamida



i) Se agregó DIPEA (121 μ L) a una mezcla del **Ejemplo 135** (50 mg), HATU (44 mg) y AcOH (7 μ L) en DMF (1 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente hasta el día siguiente. La mezcla se diluyó entonces con NaHCO₃ acuoso y se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró para proporcionar un sólido blanco. El producto en bruto se purificó por HPLC preparativa para proporcionar *N*-{4-[(2-metoxi-4-{6-oxo-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-4-il}fenoxy)metil]-3-(trifluorometil)fenil}acetamida (10 mg) en forma de polvo blanco. MS(ES⁺) *m/z* 475.4 (M+H)⁺

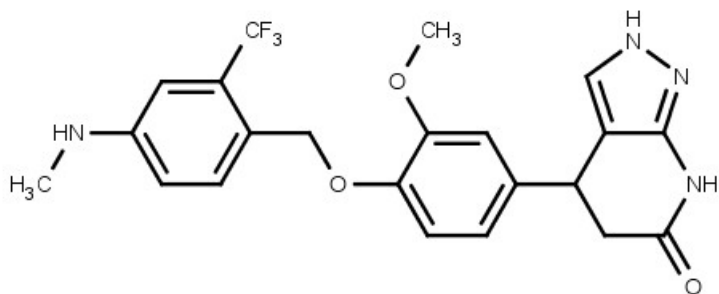
140: 2-amino-*N*-{4-[(2-metoxi-4-{6-oxo-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-4-il}fenoxy)metil]-3-(trifluorometil)fenil}acetamida



i) Análogo al procedimiento descrito en el **Ejemplo 139**, usando el **Ejemplo 135** (100 mg) como material inicial, se obtuvo *N*-[({4-[(2-metoxi-4-{6-oxo-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-4-il}fenoxy)metil]-3-(trifluorometil)fenil}carbamoil)metil]carbamato de *ter*-butilo (102 mg) en forma de polvo blanco.

ii) Análogo al procedimiento descrito en el **Ejemplo 135, paso v)**, el compuesto obtenido en el paso anterior (102 mg) se convirtió en 2-amino-*N*-{4-[(2-metoxi-4-{6-oxo-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-4-il}fenoxy)metil]-3-(trifluorometil)fenil}acetamida (40 mg, polvo blanco). MS(ES⁺) *m/z* 490.2 (M+H)⁺

141: 4-(3-metoxi-4-{[4-(metilamino)-2-(trifluorometil)fenil]metoxi}fenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona

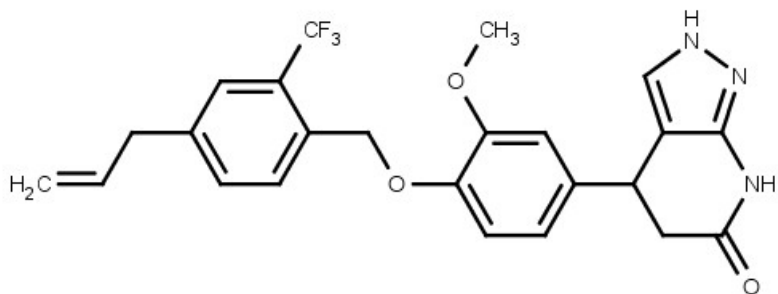


i) Una solución del Bloque de Construcción obtenido en el **Ejemplo 135, paso iii)** (500 mg) en 3 ml de THF anhidro se agregó a una suspensión enfriada (0 °C) de NaH (94 mg, 60 % en peso) en 2 ml de THF anhidro bajo atmósfera de nitrógeno. La reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 20 minutos, luego se agregó MeI (2,9 ml, 2M en *ter*-butil metil éter) y la reacción se agitó hasta el día siguiente. La mezcla de reacción se diluyó con H₂O, se extrajo con EtOAc dos veces y se lavó con salmuera. Las capas orgánicas se combinaron, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron para proporcionar un aceite amarillo. Este se disolvió en DCM, se cargó sobre polvo de sílice y se purificó por cromatografía en gel de sílice, usando un gradiente isocrático de 15 % EtOAc en heptano, para proporcionar *N*-{4-[(4-formil-2-metoxifenoxi)metil]-3-(trifluorometil)fenil}-*N*-metilcarbamato de *ter*-butilo (107 mg) en forma de aceite incoloro.

ii) Análogo al procedimiento descrito en el **Ejemplo 1, paso ii)**, el compuesto obtenido en el paso anterior (107 mg) se convirtió en *N*-{4-[(2-metoxi-4-{6-oxo-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-4-il}fenoxi)metil]-3-(trifluorometil)fenil}-*N*-metilcarbamato de *ter*-butilo (88 mg, sólido beige).

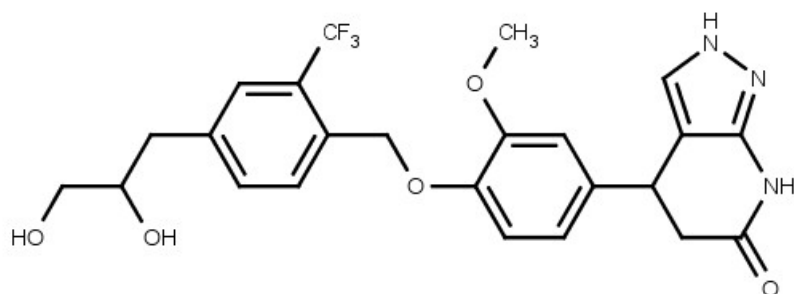
iii) Análogo al procedimiento descrito en el **Ejemplo 135, paso v)**, el compuesto obtenido en el paso anterior (88 mg) se convirtió en 4-(3-metoxi-4-{[4-(metilamino)-2-(trifluorometil)fenil]metoxi}fenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona (4 mg, polvo blanco). MS(ES⁺) *m/z* 447.2 (M+H)⁺

142: 4-(3-metoxi-4-{[4-(prop-2-en-1-il)-2-(trifluorometil)fenil]metoxi}fenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



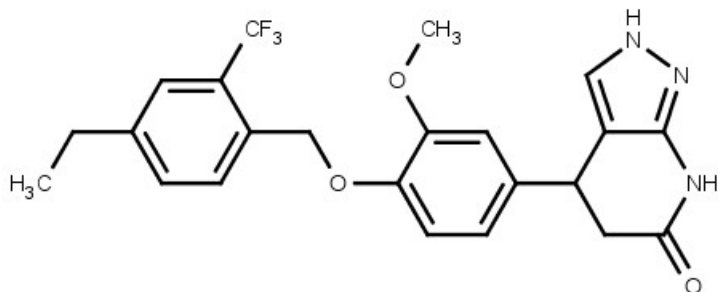
i) Se agregó DMF anhidra (2,5 ml) y aliltri-*n*-butilestaño (375 μ L) a un vial que contenía el **Ejemplo 33** (500 mg), $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$, y PPh_3 . El vial se tapó y se agitó durante 20 minutos a 150 °C en el microondas. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc y se lavó con salmuera. La capa orgánica se secó sobre MgSO_4 , se filtró, se concentró y se purificó por cromatografía flash en fase inversa, usando un gradiente de 20 % a 60 % de ACN en H_2O como eluyente, para proporcionar 4-(3-metoxi-4-[[4-(prop-2-en-1-il)-2-(trifluorometil)fenil]metoxi]fenil)-2H,4H,5H,6H,7H-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona (316 mg, polvo blanco). MS(ES^+) m/z 458.2 ($\text{M}+\text{H}^+$)

143: 4-(4-[[4-(2,3-dihidroxipropil)-2-(trifluorometil)fenil]metoxi]-3-metoxifenil)-2H,4H,5H,6H,7H-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



i) A una solución del **Ejemplo 142** (100 mg) en acetona (1 ml) y H_2O (0,1 ml) se agregó secuencialmente NMO (51 mg) y OsO_4 (cantidad catalítica). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. Se agregó una solución de sulfito de sodio en 4 ml de H_2O y la mezcla de reacción se agitó durante otros 20 minutos. El producto se extrajo con EtOAc y la fase orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO_4 , se filtró y se concentró para proporcionar un aceite. El producto en bruto se purificó por cromatografía flash en fase inversa, usando un gradiente de 10 % a 100 % de ACN en H_2O como eluyente, para obtener 4-(4-[[4-(2,3-dihidroxipropil)-2-(trifluorometil)fenil]metoxi]-3-metoxifenil)-2H,4H,5H,6H,7H-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona (12 mg, polvo blanco). MS(ES^+) m/z 492.2 ($\text{M}+\text{H}^+$)

144: 4-(4-([4-etil-2-(trifluorometil)fenil]metoxi)-3-metoxifenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



- 5 **i)** Análogo al procedimiento descrito en el **Ejemplo 1, paso i)**, se obtuvo 4-([4-bromo-2-(trifluorometil)fenil]metoxi)-3-metoxibenzaldehído, a partir de 4-bromo-1-(bromometil)-2-(trifluorometil)benceno.
- ii)** Una solución del compuesto obtenido en el paso previo (5,91 g), etilenglicol (8,49 ml) y p-TsOH monohidrato (0,29 g) en tolueno (50 ml) se sometió a reflujo en condiciones de Dean-Stark
10 durante 7 horas. La reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y se agregó NaHCO₃. Se agregó tolueno y la capa orgánica se lavó con NaHCO₃ acuoso saturado, H₂O y salmuera secuencialmente. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró para proporcionar 2-(4-([4-bromo-2-(trifluorometil)fenil]metoxi)-3-metoxifenil)-1,3-dioxolano (6,29 g, polvo beige).
- 15 **iii)** Un vial se cargó con el compuesto obtenido en el paso anterior (100 mg), K₃PO₄ (147 mg) y ácido etilborónico (51 mg). Se agregó 1,4-dioxano (1 ml) y la mezcla resultante se desgasificó burbujeando nitrógeno a través de ella durante 30 minutos. Se agregó Pd(PPh₃)₂Cl₂ y el vial se tapó y se agitó durante 90 minutos a 90 °C en el microondas. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc y se lavó secuencialmente con H₂O, 2N HCl acuoso, 2N NaOH acuoso, H₂O y
20 salmuera. La fase orgánica se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró para proporcionar 2-(4-([4-etil-2-(trifluorometil)fenil]metoxi)-3-metoxifenil)-1,3-dioxolano (48 mg, aceite amarillo).
- iv)** A una solución del compuesto obtenido en el paso anterior (48 mg) en THF (1 ml) se agregó 0,41 ml de una solución acuosa de 6M HCl. La solución resultante se agitó a temperatura ambiente hasta el día siguiente. El THF se evaporó y la mezcla acuosa resultante se alcalinizó
25 con K₂CO₃ acuoso saturado. La mezcla luego se extrajo con EtOAc y se lavó con K₂CO₃ acuoso saturado y salmuera secuencialmente. La capa orgánica se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró para proporcionar un aceite amarillo, el cual se disolvió en heptano. Se filtró un polvo

amarillo, y el filtrado se concentró para proporcionar 4-[[4-etil-2-(trifluorometil)fenil]metoxi]-3-metoxibenzaldehído en forma de polvo blanco.

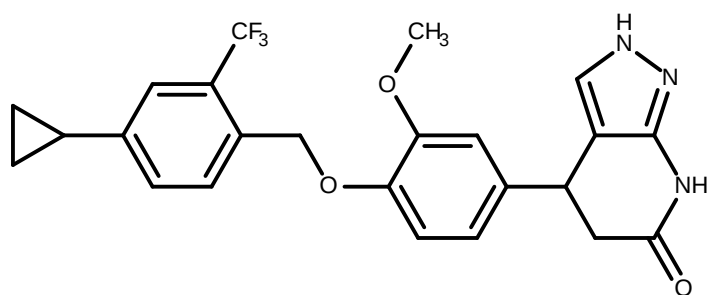
v) Análogo al procedimiento descrito en el **Ejemplo 1, paso ii)**, el compuesto obtenido en el paso anterior (57 mg) se convirtió en 4-(4-[[4-etil-2-(trifluorometil)fenil]metoxi]-3-metoxifenil)-

5 2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona (17 mg, polvo blanco). MS(ES⁺) *m/z* 446.2 (M+H)⁺

Siguiendo un procedimiento análogo al descrito para el ejemplo **144**, usando materiales iniciales apropiados y solventes, se prepararon los siguientes compuestos.

145: 4-(4-[[4-ciclopropil-2-(trifluorometil)fenil]metoxi]-3-metoxifenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-

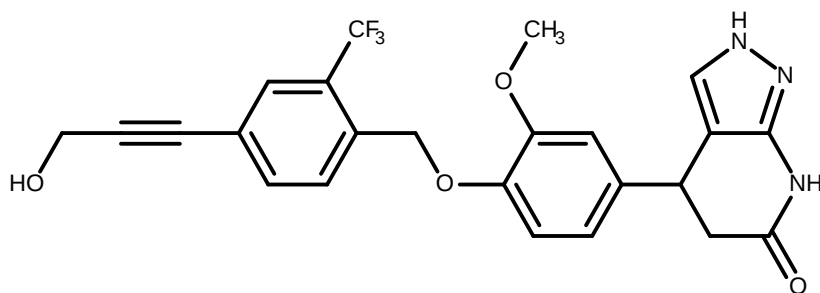
10 pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



MS(ES⁺) *m/z* 458.2 (M+H)⁺

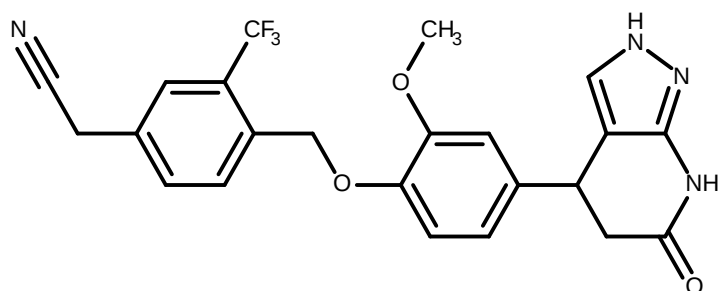
146: 4-(4-[[4-(3-hidroxi-1-prop-1-inoil)-2-(trifluorometil)fenil]metoxi]-3-metoxifenil)-

15 2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



MS(ES⁺) *m/z* 472.2 (M+H)⁺

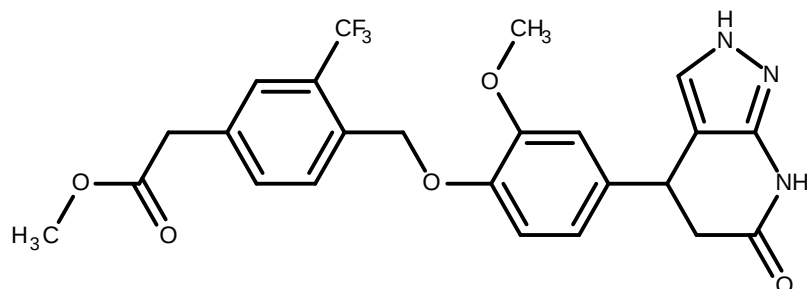
147: 2-[4-(2-metoxi-4-{6-oxo-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-4-il}fenoximetil)-3-(trifluorometil)fenil]acetonitrilo



MS(ES⁺) *m/z* 457.2 (M+H)⁺

5

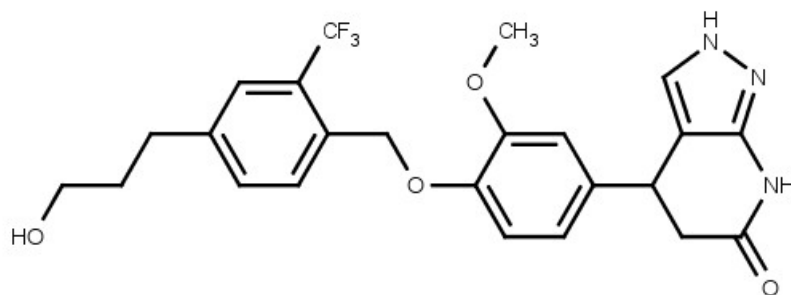
148: 2-[4-(2-metoxi-4-{6-oxo-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-4-il}fenoximetil)-3-(trifluorometil)fenil]acetato de metilo



MS(ES⁺) *m/z* 490.2 (M+H)⁺

10

149: 4-(4-[[4-(3-hidroxipropil)-2-(trifluorometil)fenil]metoxi]-3-metoxifenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



i) Una solución del **Ejemplo 146** (116 mg) en MeOH (10 ml) se desgasificó burbujeando con nitrógeno durante 10 minutos. Se agregó 10 % Pd/C (52 mg, que contenía 50 % H₂O) y la reacción

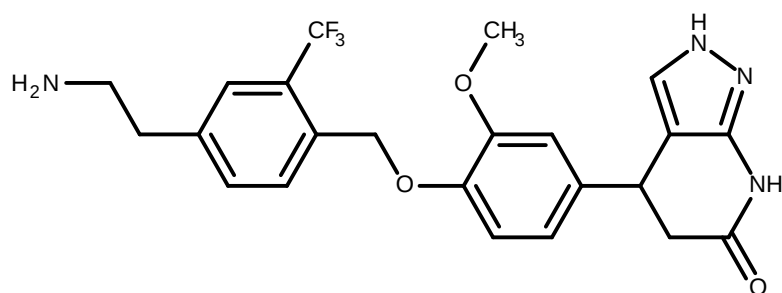
15

se burbujeó con gas hidrógeno durante 3 horas. La reacción se filtró sobre Celite y el filtrado se concentró. El producto en bruto se purificó sobre HPLC preparativa para obtener 4-(4-[[4-(3-hidroxipropil)-2-(trifluorometil)fenil]metoxi]-3-metoxifenil)-2H,4H,5H,6H,7H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona (48 mg, polvo blanco). MS(ES⁺) *m/z* 476.5 (M+H)⁺

5

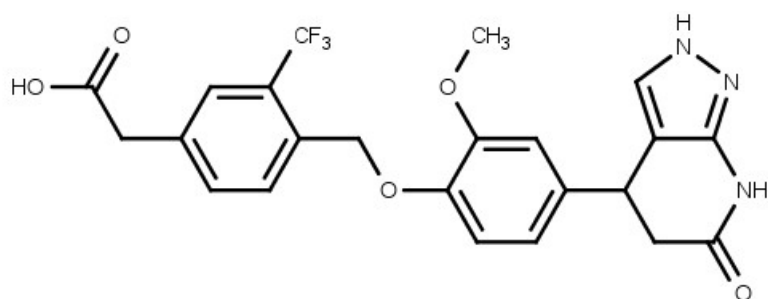
Siguiendo un procedimiento análogo al descrito para el Ejemplo **149**, usando el **Ejemplo 147** como material inicial y los reactivos y solventes apropiados, se preparó el siguiente compuesto.

150: 4-(4-[[4-(2-aminoetil)-2-(trifluorometil)fenil]metoxi]-3-metoxifenil)-2H,4H,5H,6H,7H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona



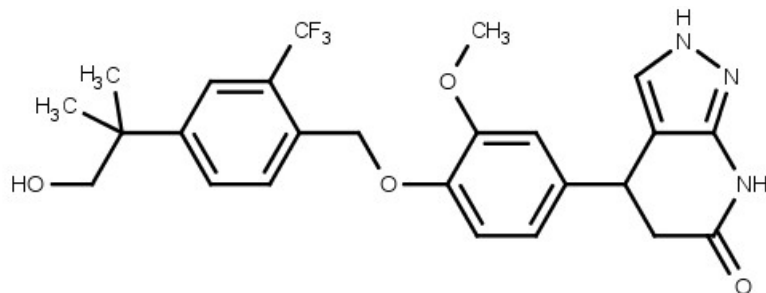
MS(ES⁺) *m/z* 461.2 (M+H)⁺

151: ácido 2-{4-[(2-metoxi-4-{6-oxo-2H,4H,5H,6H,7H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il}fenoxi)metil]-3-(trifluorometil)fenil}acético



i) Usando un procedimiento análogo al **Ejemplo 120, pasos i) y ii)**, 66 mg del **Ejemplo 148** se convirtieron en ácido 2-{4-[(2-metoxi-4-{6-oxo-2H,4H,5H,6H,7H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il}fenoxi)metil]-3-(trifluorometil)fenil}acético (21 mg, polvo blanco). MS(ES⁺) *m/z* 461.2 (M+H)⁺

152: 4-(4-{[4-(1-hidroxi-2-metilpropan-2-il)-2-(trifluorometil)fenil]metoxi}-3-metoxifenil)-2H,4H,5H,6H,7H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona

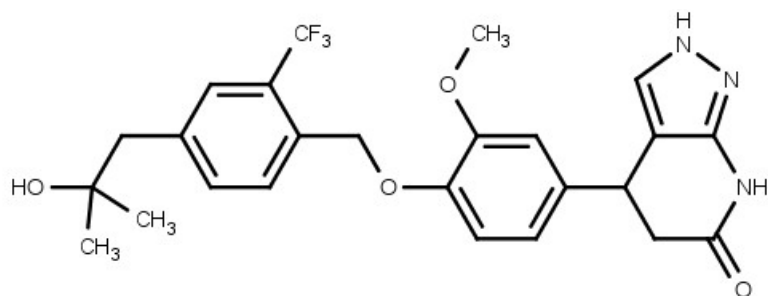


i) Siguiendo un procedimiento análogo al descrito en el **Ejemplo 144, paso iii)**, usando el compuesto obtenido del **Ejemplo 144, paso ii)** (200 mg) y 1-metoxi-1-(trimetilsiloxi)-2-metil-1-propeno (121 mg), se obtuvo 2-{4-[4-(1,3-dioxolan-2-il)-2-metoxifenoximetil]-3-(trifluorometil)fenil}-2-metilpropanoato de metilo (58 mg).

ii) A una solución enfriada (0 °C) del producto obtenido en el paso previo (58 mg) en THF anhidro (1 ml) se agregó LiAlH₄ (0,51 ml, 1M en Et₂O) bajo atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 30 minutos, luego se extinguió mediante la adición por goteo de EtOAc mientras se enfriaba. La mezcla se lavó con una solución acuosa saturada de tartrato de potasio y sodio dos veces, NaHCO₃ acuoso saturado y salmuera secuencialmente, luego se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró para proporcionar un aceite incoloro. Este se disolvió en DCM y se purificó por cromatografía en gel de sílice, usando un gradiente de 0 % a 50 % de EtOAc en heptano como eluyente, para proporcionar 15 mg de 2-(4-{[4-(1,3-dioxolan-2-il)-2-metoxifenoxi]metil}-3-(trifluorometil)fenil)-2-metilpropan-1-ol en forma de aceite incoloro.

iii) Siguiendo un procedimiento análogo al descrito en el **Ejemplo 144, paso iv)**, seguido por un procedimiento análogo al descrito en el **Ejemplo 1, paso ii)**, el compuesto obtenido en el paso anterior (15 mg) se convirtió en 4-(4-{[4-(1-hidroxi-2-metilpropan-2-il)-2-(trifluorometil)fenil]metoxi}-3-metoxifenil)-2H,4H,5H,6H,7H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona (4 mg, polvo blanco). MS(ES⁺) m/z 490.2 (M+H)⁺

153: 4-(4-{[4-(2-hidroxi-2-metilpropil)-2-(trifluorometil)fenil]metoxi}-3-metoxifenil)-2H,4H,5H,6H,7H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona

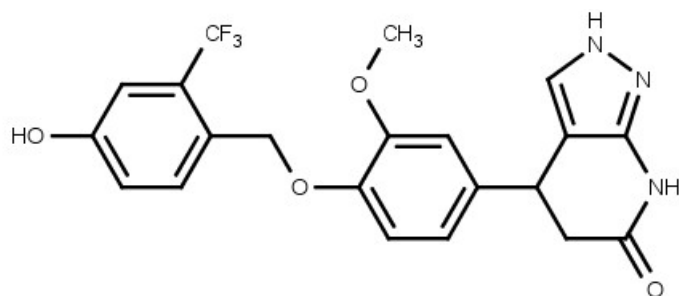


i) Siguiendo un procedimiento análogo al descrito en el **Ejemplo 144, paso iii)**, usando el compuesto obtenido del **Ejemplo 144, paso ii)** (589 mg) y 1-(*ter*-butildimetilsililo)-1-metoxieteno (512 mg), se obtuvo 2-(4-([4-(1,3-dioxolan-2-il)-2-metoxifenoxi]metil)-3-(trifluorometil)fenil)acetato de metilo (421 mg).

ii) El compuesto obtenido en el paso anterior (421 mg) se disolvió en 10 ml de THF anhidro bajo atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se enfrió hasta 10 °C y se agregó MeMgBr (1 ml, 3M en Et₂O) lentamente. La mezcla de reacción se agitó 30 minutos a temperatura ambiente y luego se sometió a reflujo durante 2 horas. La reacción se enfrió hasta temperatura ambiente, se agregó 2 ml de NH₄Cl acuoso saturado y la mezcla de reacción luego se agitó hasta el día siguiente a temperatura ambiente. Se agregó 2 ml de 2M HCl acuoso y la mezcla se agitó durante 1 h. El producto se extrajo con EtOAc tres veces y las capas orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron para proporcionar 1-(4-([4-(1,3-dioxolan-2-il)-2-metoxifenoxi]metil)-3-(trifluorometil)fenil)-2-metilpropan-2-ol en forma de aceite amarillo (387 mg). El producto se usó en el siguiente paso sin purificación adicional.

iii) Siguiendo un procedimiento análogo al descrito en el **Ejemplo 1, paso ii)**, el compuesto obtenido en el paso anterior (387 mg) se convirtió en 4-(4-([4-(2-hidroxi-2-metilpropil)-2-(trifluorometil)fenil]metoxi)-3-metoxifenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona (75 mg, polvo blanco). MS(ES⁺) *m/z* 490.2 (M+H)⁺

154: 4-(4-([4-hidroxi-2-(trifluorometil)fenil]metoxi)-3-metoxifenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



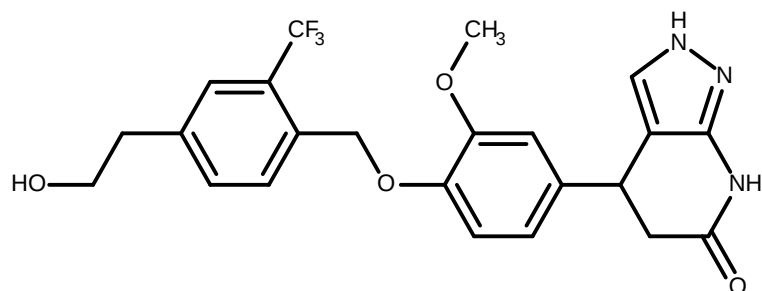
MS(ES⁺) *m/z* 434.1 (M+H)⁺

i) Una solución del compuesto obtenido en el **Ejemplo 144, paso ii)** (100 mg), bis(pinacolato)diboro (88 mg) y KOAc (68 mg) en 1,4-dioxano (1 ml) se desgasificó con nitrógeno durante 20 minutos. Se agregó Pd(dppf)Cl₂ (19 mg) y el vial se tapó y se agitó en el microondas durante 16 horas a 80 °C. La mezcla de reacción se diluyó con Et₂O y se filtró sobre Celite. El filtrado se concentró para proporcionar un aceite marrón. El producto en bruto se purificó en una columna de sílice, usando un gradiente de 0 % a 50 % de EtOAc en heptano como eluyente, para obtener 2-{4-[4-(1,3-dioxolan-2-il)-2-metoxifenoximetil]-3-(trifluorometil)fenil}-4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolano (75 mg) en forma de aceite incoloro.

ii) A una solución del compuesto obtenido en el paso anterior (75 mg) en metanol (4 ml) se agregó a 30 % en peso de peróxido de hidrógeno en solución acuosa (425 µL). La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla de reacción se extinguió con sulfito de sodio (polvo) y los solventes orgánicos se evaporaron al vacío. La suspensión acuosa obtenida se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se lavó con NaHCO₃ acuoso saturado y salmuera secuencialmente, luego se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró para proporcionar 4-[4-(1,3-dioxolan-2-il)-2-metoxifenoximetil]-3-(trifluorometil)fenol (60 mg) en forma de aceite amarillo pálido. El producto se usó en el siguiente paso sin purificación adicional.

iii) Siguiendo un procedimiento análogo al descrito en el **Ejemplo 144, paso iv)**, seguido por un procedimiento análogo al descrito en el **Ejemplo 1, paso ii)**, el compuesto obtenido en el paso anterior (60 mg) se convirtió en 4-(4-{[4-(1-hidroxi-2-metilpropan-2-il)-2-(trifluorometil)fenil]metoxi}-3-metoxifenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona (23 mg). MS(ES⁺) *m/z* 434.2 (M+H)⁺

155: 4-(4-{[4-(2-hidroxietil)-2-(trifluorometil)fenil]metoxi}-3-metoxifenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona

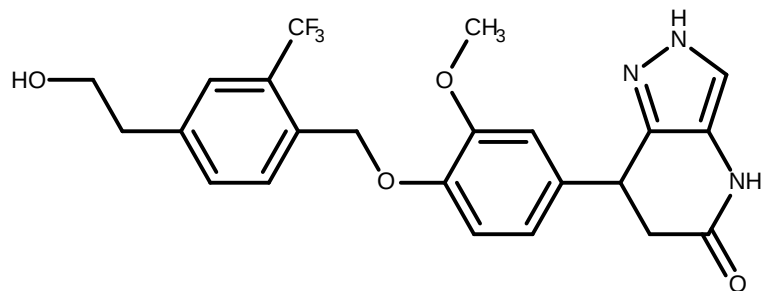


i) A una solución a 0 °C del compuesto obtenido en el **Ejemplo 151, paso i)** (93 mg) en THF anhidro (1 ml) se agregó LiAlH₄ (0,86 ml, 1M en Et₂O) bajo atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 90 minutos y luego se extinguió mediante la adición por goteo de EtOAc mientras se enfriaba. La mezcla se lavó con una solución acuosa saturada de tartrato de potasio y sodio dos veces, NaHCO₃ acuoso saturado y salmuera secuencialmente, luego se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró para proporcionar 2-{4-[4-(1,3-dioxolan-2-il)-2-metoxifenoximetil]-3-(trifluorometil)fenil}etan-1-ol (60 mg) en forma de aceite incoloro. El producto se usó en el siguiente paso sin purificación adicional.

ii) Siguiendo un procedimiento análogo al descrito en el **Ejemplo 144, paso iv)**, seguido por un procedimiento análogo al descrito en el **Ejemplo 1, paso ii)**, el compuesto obtenido en el paso anterior (60 mg) se convirtió en 4-(4-{[4-(2-hidroxietil)-2-(trifluorometil)fenil]metoxi}-3-metoxifenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona (5 mg). MS(ES⁺) *m/z* 462.2 (M+H)⁺

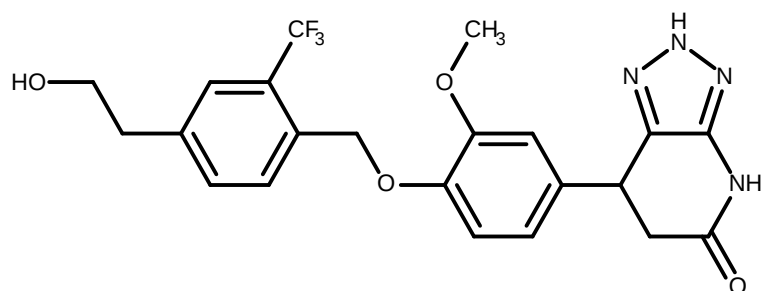
Seguendo un procedimiento análogo al descrito para el Ejemplo **155**, usando materiales iniciales apropiados, se prepararon los siguientes compuestos.

156: 7-(4-{[4-(2-hidroxietyl)-2-(trifluorometil)fenil]metoksi}-3-metoxifenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[4,3-*b*]piridin-5-ona



MS(ES⁺) *m/z* 462.2 (M+H)⁺

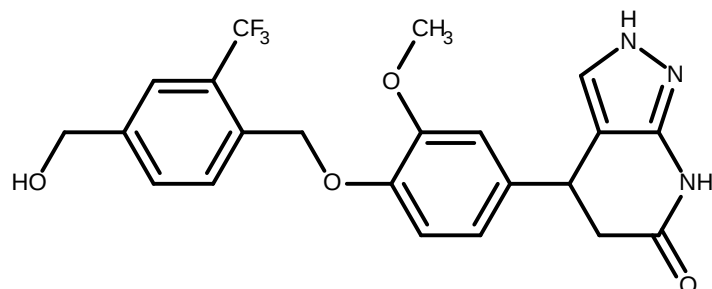
157: 7-(4-([4-(2-hidroxietyl)-2-(trifluorometil)fenil]metoxi)-3-metoxifenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*b*]piridin-5-ona



MS(ES⁺) *m/z* 463.2 (M+H)⁺

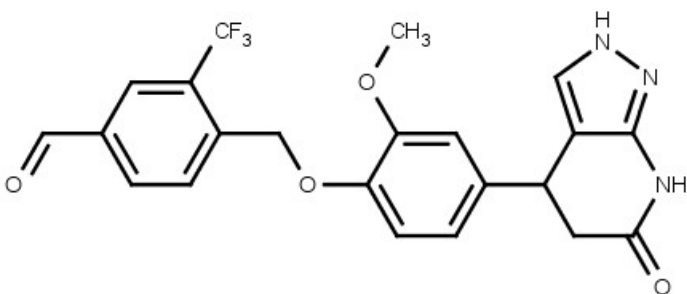
5

158: 4-(4-([4-(hidroximetil)-2-(trifluorometil)fenil]metoxi)-3-metoxifenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



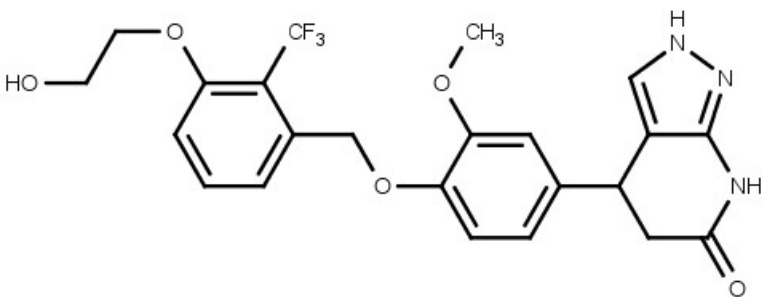
i) El compuesto obtenido en el **Ejemplo 120, paso i)** (200 mg) se suspendió en THF anhidro (4 ml) y se agregó BH₃-Me₂S (321 μL, 2M en THF) por goteo. Al cabo de 2 horas de agitación a temperatura ambiente, se agregaron otros 321 μL de BH₃-Me₂S (2M en THF) por goteo y la mezcla de reacción se agitó durante 1 hora. Se agregó 0.5M HCl acuoso y el producto se extrajo con DCM dos veces y EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron. El producto en bruto se purificó por HPLC preparativa, usando un gradiente isocrático de 35 % ACN en H₂O como eluyente, para proporcionar 4-(4-([4-(hidroximetil)-2-(trifluorometil)fenil]metoxi)-3-metoxifenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona (6 mg) en forma de polvo blanco. MS(ES⁺) *m/z* 448,2 (M+H)⁺

159: 4-[(2-metoxi-4-{6-oxo-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-4-il}fenoxi)metil]-3-(trifluorometil)benzaldehído



i) El **Ejemplo 42** (146 mg) se disolvió en THF anhidro (5 ml) bajo atmósfera de nitrógeno. La solución se enfrió hasta -78°C y se agregó DiBAL-H (921 μL , 1M en tolueno). La reacción se agitó durante 4 horas a -78°C y luego se extinguió con 1M HCl acuoso. La reacción se calentó hasta temperatura ambiente y el producto se extrajo con EtOAc tres veces y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO_4 , se filtraron y se concentraron para proporcionar 176 mg de producto en bruto. El producto en bruto se suspendió en ACN y los sólidos se filtraron y se lavaron con ACN. El filtrado se evaporó y el producto en bruto se purificó dos veces por cromatografía flash en fase inversa para proporcionar 4-[(2-metoxi-4-{6-oxo-2H,4H,5H,6H,7H-pirazolo[3,4-b]piridin-4-il}fenoxi)metil]-3-(trifluorometil)benzaldehído (14 mg, polvo blanco). MS(ES^+) m/z 446,2 ($\text{M}+\text{H}$)⁺

160: 4-(4-[[3-(2-hidroxietoxi)-2-(trifluorometil)fenil]metoxi]-3-metoxifenil)-2H,4H,5H,6H,7H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona



i) Análogo al procedimiento descrito en el **Ejemplo 1, paso i)**, se obtuvo 4-[[3-bromo-2-(trifluorometil)fenil]metoxi]-3-metoxibenzaldehído, partiendo de 1-bromo-3-(bromometil)-2-(trifluorometil)benceno.

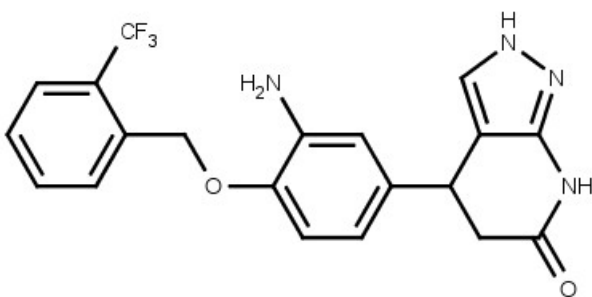
ii) Análogo al procedimiento descrito en el **Ejemplo 144, paso ii)**, el compuesto obtenido en el paso anterior (4,53 g) se convirtió en 2-(4-[[3-bromo-2-(trifluorometil)fenil]metoxi]-3-metoxifenil)-1,3-dioxolano (4.5 g, sólido blanco).

iii) Una mezcla del compuesto obtenido en el paso anterior (100 mg), bromuro de cobre(II) (16 mg) y K_2CO_3 (96 mg) en etilenglicol anhidro (0,5 ml) se agitó a 130°C hasta el día siguiente. La

mezcla de reacción se diluyó con EtOAc y se lavó secuencialmente con H₂O, NaHCO₃ acuoso saturado y salmuera. La capa orgánica luego se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró para proporcionar un sólido amarillo. Este se disolvió en ACN y se purificó por cromatografía flash en fase inversa para proporcionar 2-(3-[[4-(1,3-dioxolan-2-il)-2-metoxifenoxi]metil]-2-(trifluorometil)fenoxi)etan-1-ol (28 mg, sólido beige).

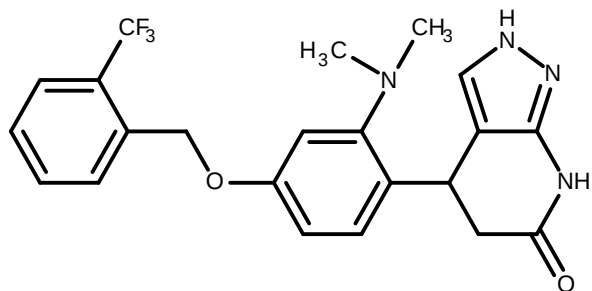
iv) Análogo al procedimiento descrito en el **Ejemplo 144, paso iv)**, seguido por el procedimiento descrito en el **Ejemplo 1, paso ii)**, el compuesto obtenido en el paso anterior (28 mg) se convirtió en 4-(4-[[3-(2-hidroxietoxi)-2-(trifluorometil)fenil]metoxi]-3-metoxifenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona (12 mg, polvo blanco). MS(ES⁺) *m/z* 478,2 (M+H)⁺

161: 4-(3-amino-4-[[2-(trifluorometil)fenil]metoxi]fenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



i) Una solución de NH₄Cl (14 mg) en agua (1 ml) se agregó a una solución del **Ejemplo 67** (30 mg) en THF/MeOH (0,5 ml/0,5 ml) seguido por la adición de polvo de hierro (15 mg). La mezcla de reacción se agitó a 70 °C durante 4 horas. Luego, la mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente, se diluyó con EtOAc, se filtró sobre Celite y se concentró para obtener un aceite incoloro. El aceite se purificó en HPLC preparativa para obtener 4-(3-amino-4-[[2-(trifluorometil)fenil]metoxi]fenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona (14 mg). MS(ES⁺) *m/z* 403,2 (M+H)⁺

162: 4-[2-(dimetilamino)-4-[[2-(trifluorometil)fenil]metoxi]fenil]-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona

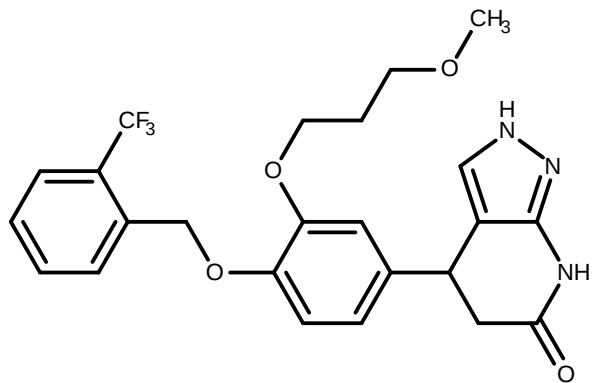


i) Siguiendo un procedimiento análogo al descrito en el **Ejemplo 1, paso i)**, 2-fluoro-4-hidroxibenzaldehído (2 g) se convirtió en 2-fluoro-4-[[2-(trifluorometil)fenil]metoxi} benzaldehído (4,1 g).

5 ii) El compuesto obtenido en el paso anterior (100 mg) se disolvió en DMF (2 ml) y se agregó dimetilamina HCl (32 mg) y K₂CO₃ (109 mg). La mezcla de reacción se calentó hasta 110 °C y se agitó durante 5 días. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y se agregó 10 ml de agua. El producto se extrajo con EtOAc tres veces y las capas orgánicas combinadas se lavaron salmuera tres veces, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron para proporcionar 2-(dimetilamino)-4-[[2-(trifluorometil)fenil]metoxi}benzaldehído (107 mg). El
10 producto se usó en el siguiente paso sin purificación adicional.

iii) Siguiendo un procedimiento análogo al descrito en el **Ejemplo 1, paso ii)**, el compuesto obtenido en el paso anterior (107 mg) se convirtió en 4-[2-(dimetilamino)-4-[[2-(trifluorometil)fenil]metoxi}fenil]-2H,4H,5H,6H,7H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona (9 mg). MS(ES⁺)
15 m/z 431,2 (M+H)⁺

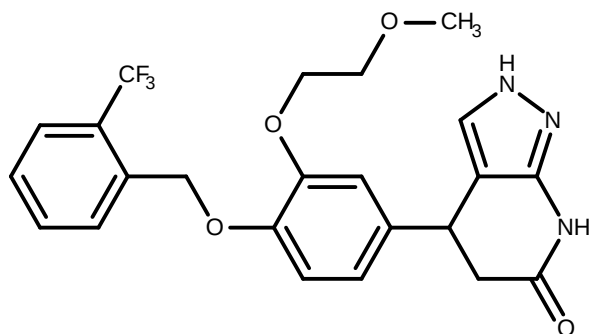
163: 4-[3-(3-metoxipropoxi)-4-[[2-(trifluorometil)fenil]metoxi}fenil]-2H,4H,5H,6H,7H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona



- i) 4-Fluoro-3-hidroxibenzaldehído (300 mg) y 1-bromo-3-metoxipropano (327 mg) se disolvieron en ACN (10 ml), se agregó K₂CO₃ (647 mg) y la mezcla de reacción se calentó hasta 70 °C hasta el día siguiente. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y luego se dividió entre EtOAc y agua. La capa acuosa se extrajo dos veces más con EtOAc y las capas orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron. El producto en bruto se purificó en una columna de sílice, usando un gradiente de 0 % a 30 % EtOAc en heptano como eluyente, para proporcionar 4-fluoro-3-(3-metoxipropoxi)benzaldehído (198 mg).
- 5
- ii) A una solución enfriada (0 °C) de [2-(trifluorometil)fenil]metanol (193 mg) en DMF anhidro (5 ml) se agregó NaH (14 mg) bajo atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se agitó durante 15 minutos a 0 °C, luego se agregó el compuesto obtenido en el paso anterior (109 mg) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente hasta el día siguiente. La mezcla de reacción se dividió entre EtOAc y agua. La capa acuosa se extrajo dos veces más con EtOAc y las capas orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron. El producto en bruto se purificó en una columna de sílice, usando un gradiente de 0 % a 30 % EtOAc en heptano como eluyente, para proporcionar 3-(3-metoxipropoxi)-4-[[2-(trifluorometil)fenil]metoxi]benzaldehído (96 mg).
- 10
- 15
- iii) Siguiendo un procedimiento análogo al descrito en el **Ejemplo 1, paso ii)**, el compuesto obtenido en el paso anterior (96 mg) se convirtió en 4-[3-(3-metoxipropoxi)-4-[[2-(trifluorometil)fenil]metoxi]fenil]-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona (11 mg). MS(ES⁺)
- 20 *m/z* 476,2 (M+H)⁺

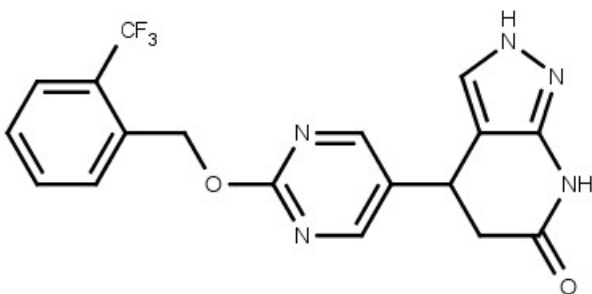
Siguiendo un procedimiento análogo al descrito para el Ejemplo **163**, usando materiales iniciales apropiados, se preparó el siguiente compuesto.

- 25 **164:** 4-[3-(2-metoxietoxi)-4-[[2-(trifluorometil)fenil]metoxi]fenil]-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



MS(ES⁺) *m/z* 462.2 (M+H)⁺

165: 4-(2-[[2-(trifluorometil)fenil]metoxi]pirimidin-5-il)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



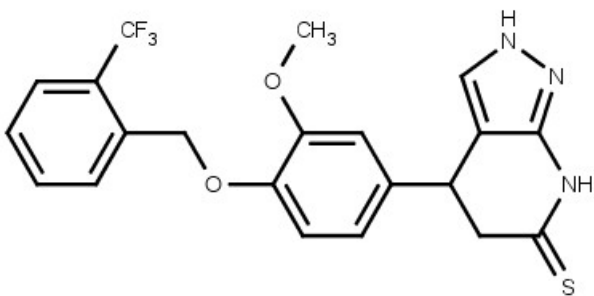
5

i) 2-Cloropirimidina-5-carbaldehído (200 mg) y Cs₂CO₃ (914 mg) se cargaron en un matraz y se agregó 15 ml de ACN. Luego, se agregó alcohol 2-(trifluorometil)bencílico (186 µL) y la reacción se agitó durante 4 días a temperatura ambiente. El solvente se evaporó y el producto en bruto se dividió entre EtOAc y agua. La capa acuosa se extrajo dos veces más con EtOAc y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron. El producto en bruto se purificó por cromatografía flash en fase inversa para proporcionar 32 mg de 2-[[2-(trifluorometil)fenil]metoxi]pirimidina-5-carbaldehído.

ii) Siguiendo un procedimiento análogo al descrito en el **Ejemplo 1, paso ii)**, el compuesto obtenido en el paso anterior (32 mg) se convirtió en 4-(2-[[2-(trifluorometil)fenil]metoxi]pirimidin-5-il)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona (18 mg). MS(ES⁺) *m/z* 390,1 (M+H)⁺

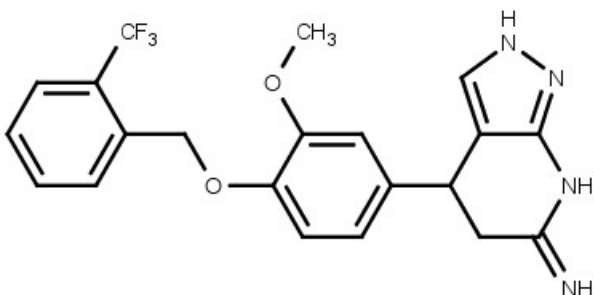
15

166: 4-(3-metoxi-4-[[2-(trifluorometil)fenil]metoxi]fenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-tiona



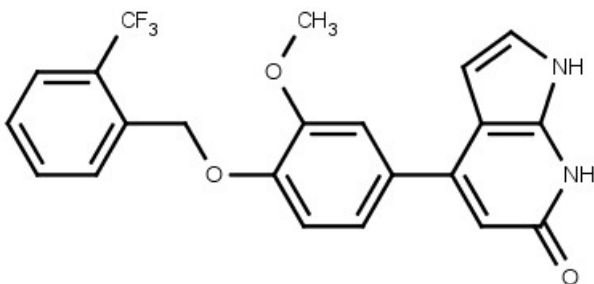
i) El **Ejemplo 1** (80 mg) se suspendió en DCM anhidro (10 ml) bajo atmósfera de nitrógeno. Se agregó reactivo de Lawesson (39 mg) y la reacción se calentó hasta 30 °C y se agitó hasta el día siguiente. El solvente se evaporó y el producto en bruto se purificó por cromatografía flash en fase inversa, usando carga sólida, para obtener 4-(3-metoxi-4-[[2-(trifluorometil)fenil]metoxi]fenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-tiona (48 mg). MS(ES⁺) *m/z* 434,1 (M+H)⁺

167: 4-(3-metoxi-4-[[2-(trifluorometil)fenil]metoxi]fenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-imina



i) El **Ejemplo 166** (18 mg) se disolvió en 7N amoníaco en MeOH (1,5 ml) bajo atmósfera de nitrógeno. La reacción se agitó durante 4 horas. El solvente se evaporó y el producto en bruto se purificó por HPLC preparativa, para obtener 4-(3-metoxi-4-[[2-(trifluorometil)fenil]metoxi]fenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-imina (17 mg). MS(ES⁺) *m/z* 417,1 (M+H)⁺

168: 4-(3-metoxi-4-[[2-(trifluorometil)fenil]metoxi]fenil)-1*H*,6*H*,7*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridin-6-ona



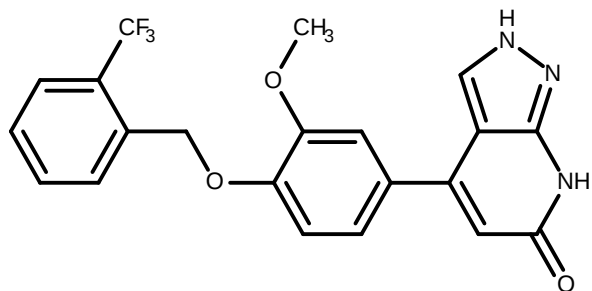
i) Siguiendo un procedimiento análogo al descrito en el **Ejemplo 1, paso i)**, 4-bromo-2-metoxifenol (2,6 g) y 2-(trifluorometil)bencilbromuro (3,06 g) se convirtieron en 4-bromo-2-metoxi-1-[[2-(trifluorometil)fenil]metoxi]benceno (4,64 g).

5 ii) Siguiendo un procedimiento análogo al descrito en el **Ejemplo 154, paso i)**, el compuesto obtenido en el paso anterior (2,32 g) se convirtió en 2-(3-metoxi-4-[[2-(trifluorometil)fenil]metoxi]fenil)-4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolano (2,32 g).

10 iii) 4-bromo-6-metoxi-1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridina (243 mg), ioduro de potasio (355 mg) y TMS-Cl (272 μ L) se disolvieron en 15 ml de ACN, se calentaron hasta 80 °C y se agitaron durante 3,5 horas. El solvente se evaporó y el producto en bruto se dividió entre agua y EtOAc. La capa acuosa se extrajo dos veces más con EtOAc y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron. El producto en bruto se suspendió en ACN/agua. Los sólidos se filtraron y se lavaron con ACN, para proporcionar 4-iodo-1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridin-6-ol (46 mg).

15 iv) 4-iodo-1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridin-6-ol (**Ejemplo 168, paso iii**) (46 mg), 2-(3-metoxi-4-[[2-(trifluorometil)fenil]metoxi]fenil)-4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolano (**Ejemplo 168, paso ii**) (108 mg) y K₂CO₃ (49 mg) se disolvieron en 2 ml de 1,4-dioxano/agua (3/1) en un vial para microondas. La mezcla se desgasificó con nitrógeno durante 15 minutos, se agregó Pd(PPh₃)₄ (20 mg) y el vial se tapó. La reacción se agitó en el microondas durante 6 horas a 100 °C. La
20 reacción se diluyó con EtOAc y se filtró sobre Celite. El filtrado se evaporó y el producto en bruto se suspendió en ACN con un poco de agua. Los sólidos se filtraron y se lavaron con ACN para obtener 4-(3-metoxi-4-[[2-(trifluorometil)fenil]metoxi]fenil)-1*H*,6*H*,7*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridin-6-ona (4 mg). MS(ES⁺) *m/z* 415,1 (M+H)⁺

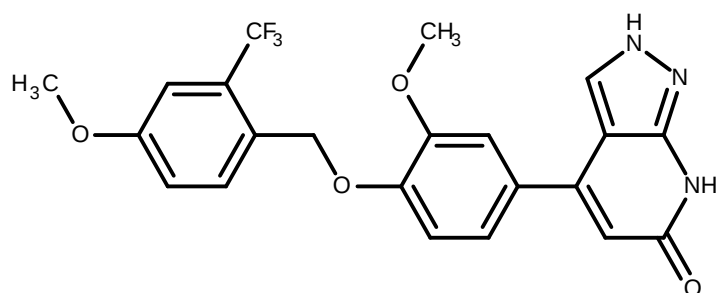
25 **169:** 4-(3-metoxi-4-[[2-(trifluorometil)fenil]metoxi]fenil)-2*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



i) Una solución del **Ejemplo 1** (40 mg) y DDQ (131 mg) en 1,4-dioxano (1 ml) se agitó durante 1 hora a 70 °C. El solvente se evaporó y al producto en bruto se agregó K₂CO₃ acuoso saturado. La capa acuosa se extrajo con DCM tres veces. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron. El producto se disolvió en un poco de ACN, THF y agua. El THF se evaporó y luego el producto se precipitó. Los sólidos se filtraron y se secaron en el horno de vacío para obtener 4-(3-metoxi-4-[[2-(trifluorometil)fenil]metoxi}fenil)-2*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona (3 mg) en forma de sólido marrón claro. MS(ES⁺) *m/z* 416,2 (M+H)⁺

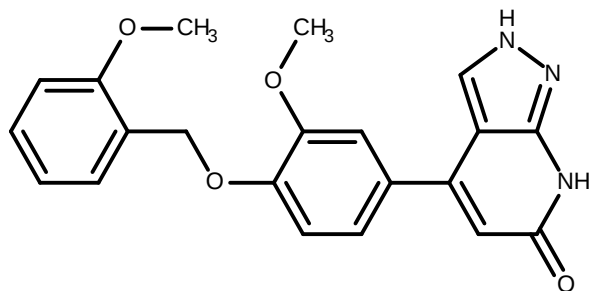
10 Siguiendo un procedimiento análogo al descrito para el Ejemplo **169**, usando materiales iniciales apropiados, se prepararon los siguientes compuestos.

170: 4-(3-metoxi-4-[[4-metoxi-2-(trifluorometil)fenil]metoxi}fenil)-2*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



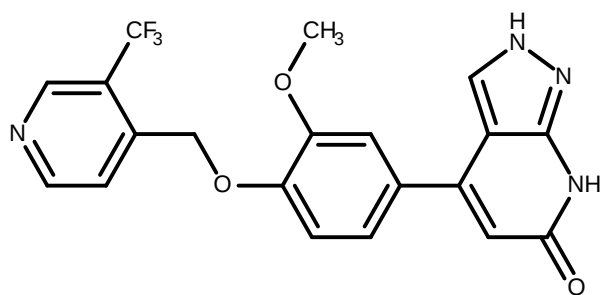
15 MS(ES⁺) *m/z* 446.2 (M+H)⁺

171: 4-{3-metoxi-4-[(2-metoxifenil)metoxi]fenil}-2*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



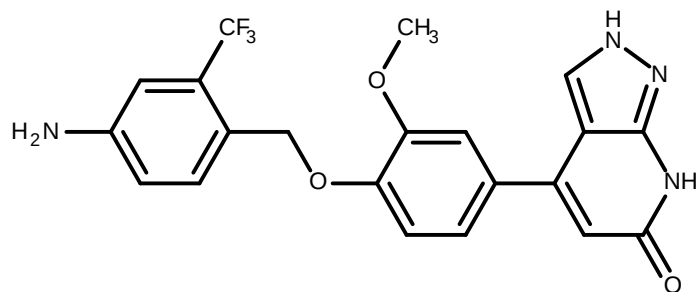
MS(ES⁺) *m/z* 378.2 (M+H)⁺

5 **172:** 4-(3-methoxy-4-([3-(trifluoromethyl)pyridin-4-yl]methoxy)fenil)-2*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



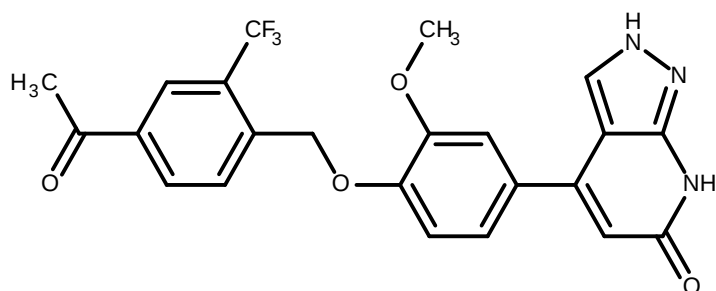
MS(ES⁺) *m/z* 417.2 (M+H)⁺

10 **173:** 4-(4-([4-amino-2-(trifluoromethyl)fenil]methoxy)-3-metoxifenil)-2*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



MS(ES⁺) *m/z* 431.2 (M+H)⁺

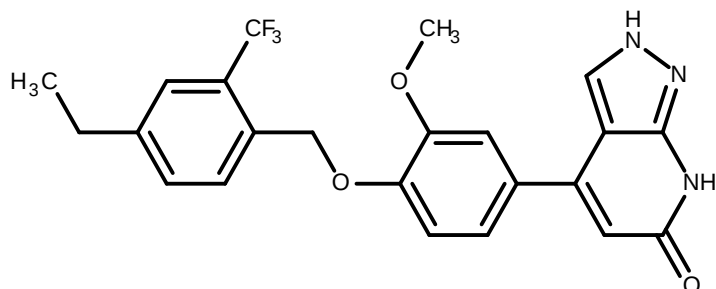
174: 4-(4-([4-acetil-2-(trifluorometil)fenil]metoxi)-3-metoxifenil)-2*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



MS(ES⁺) *m/z* 458.2 (M+H)⁺

5

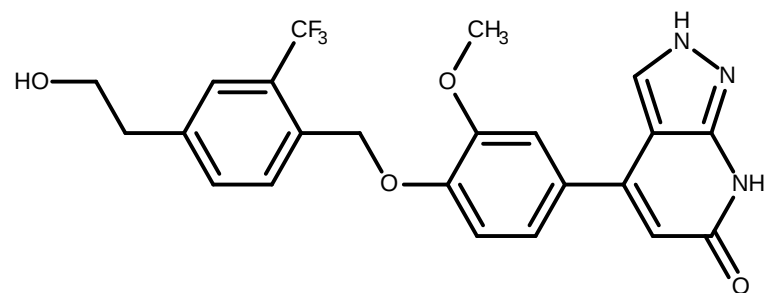
175: 4-(4-([4-etil-2-(trifluorometil)fenil]metoxi)-3-metoxifenil)-2*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



MS(ES⁺) *m/z* 444.2 (M+H)⁺

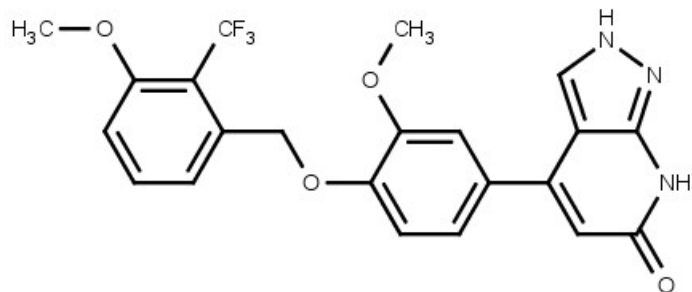
10

176: 4-(4-([4-(2-hidroxietil)-2-(trifluorometil)fenil]metoxi)-3-metoxifenil)-2*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



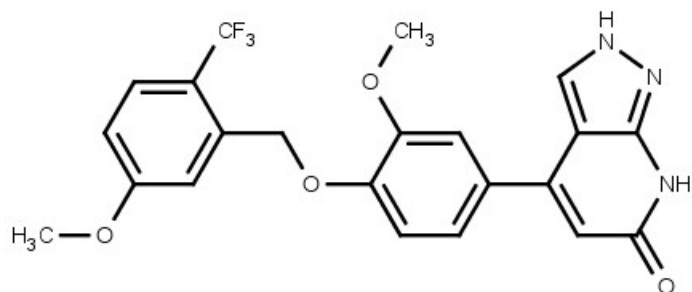
MS(ES⁺) *m/z* 460.2 (M+H)⁺

177: 4-(3-metoxi-4-[[3-metoxi-2-(trifluorometil)fenil]metoxi]fenil)-2*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



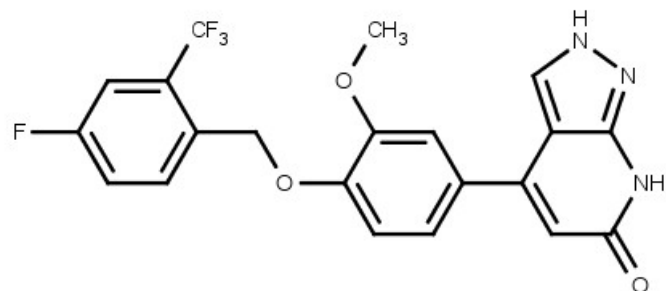
5 MS(ES⁺) *m/z* 446.1 (M+H)⁺

178: 4-(3-metoxi-4-[[5-metoxi-2-(trifluorometil)fenil]metoxi]fenil)-2*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



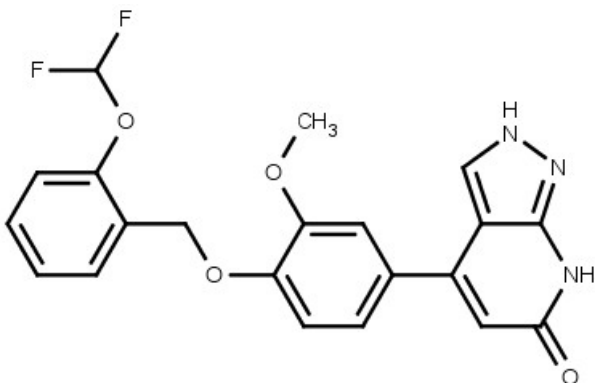
10 MS(ES⁺) *m/z* 446.1 (M+H)⁺

179: 4-(4-[[4-fluoro-2-(trifluorometil)fenil]metoxi]-3-metoxifenil)-2*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



15 MS(ES⁺) *m/z* 434.1 (M+H)⁺

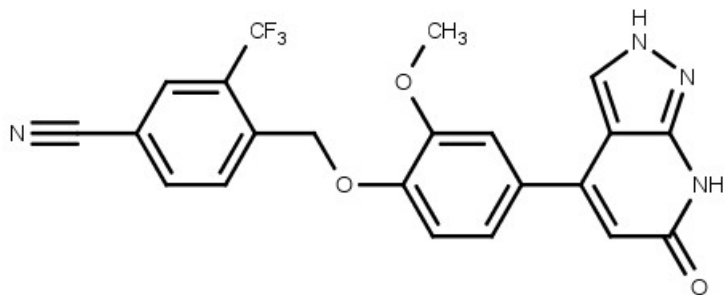
180: 4-(4-[[2-(difluorometoxi)fenil]metoxi]-3-metoxifenil)-2*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



MS(ES⁺) *m/z* 414.1 (M+H)⁺

5

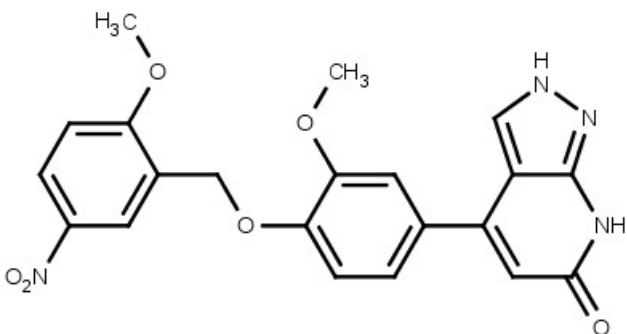
181: 4-[(2-metoxi-4-{6-oxo-2*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-4-il}fenoxi)metil]-3-(trifluorometil)benzonitrilo



MS(ES⁺) *m/z* 441.1 (M+H)⁺

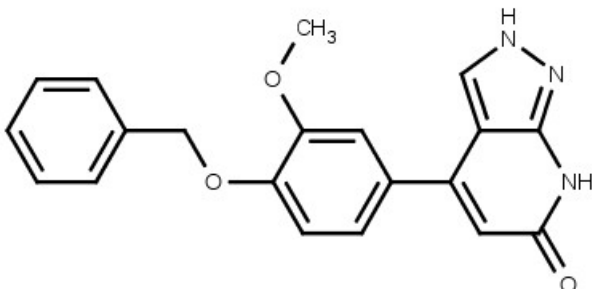
10

182: 4-{3-metoxi-4-[(2-metoxi-5-nitrofenil)metoxi]fenil}-2*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



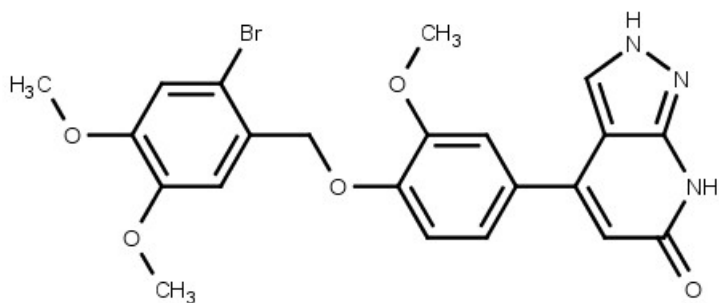
MS(ES⁺) *m/z* 423.1 (M+H)⁺

183: 4-[4-(benciloxi)-3-metoxifenil]-2*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



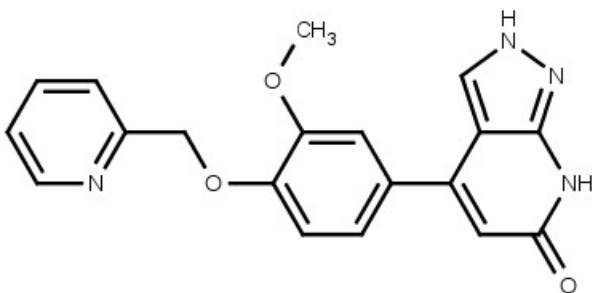
5 MS(ES⁺) *m/z* 348.1 (M+H)⁺

184: 4-{4-[(2-bromo-4,5-dimetoxifenil)metoxi]-3-metoxifenil}-2*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



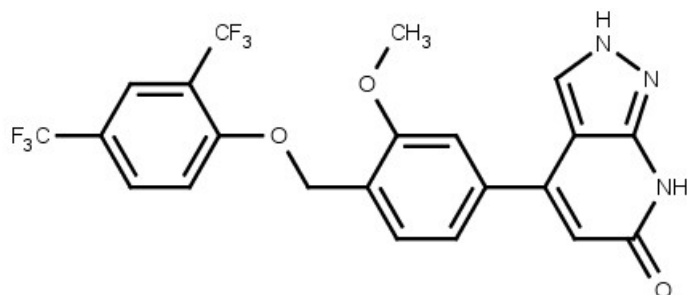
10 MS(ES⁺) *m/z* 486.1 (M+H)⁺

185: 4-{3-metoxi-4-[(piridin-2-il)metoxi]fenil}-2*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



MS(ES⁺) *m/z* 349.1 (M+H)⁺

186: 4-(4-[[2,4-bis(trifluorometil)fenoxi]metil]-3-metoxifenil)-2*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona

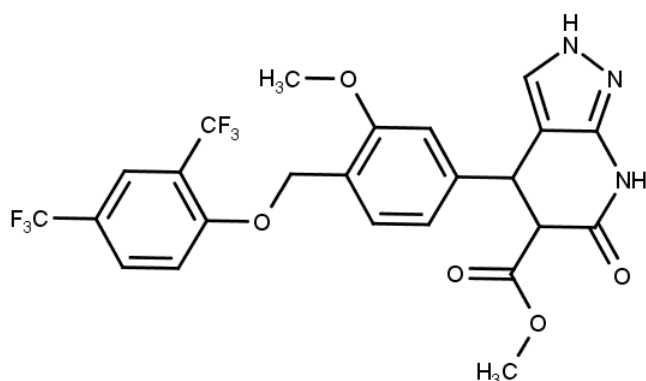


MS(ES⁺) *m/z* 484.1 (M+H)⁺

5

187:

4-(4-[[2,4-bis(trifluorometil)fenoxi]metil]-3-metoxifenil)-6-oxo-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-5-carboxilato de metilo

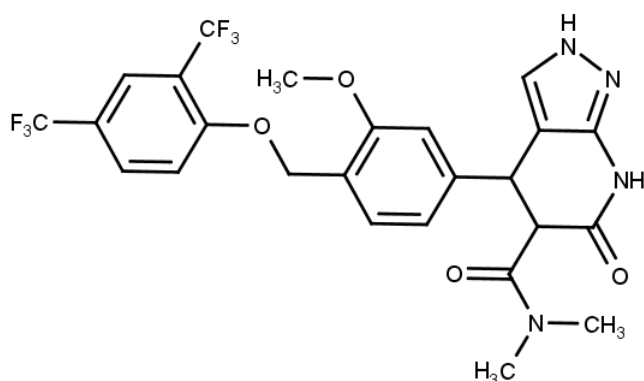


- 10 **i)** Siguiendo un procedimiento análogo al descrito para el Ejemplo **96, pasos i)** a **iii)**, usando materiales iniciales apropiados, se obtuvo 4-[[2,4-bis(trifluorometil)fenoxi]metil]-3-metoxibenzaldehído.
- ii)** El producto obtenido en el paso previo (50 mg), ácido de Meldrum (19 mg) y 3-aminopirazol (11 mg) se disolvieron en MeOH. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente
- 15 durante 5 horas y el solvente se evaporó mediante un flujo de nitrógeno. Esto dio por resultado ácido 4-[4-[[2,4-bis(trifluorometil)fenoxi]metil]-3-metoxi-fenil]-6-oxo-2,4,5,7-tetrahidropirazolo[3,4-*b*]piridin-5-carboxílico (69 mg) en forma de aceite amarillo.
- iii)** Se agregó DIAD (33 µL) por goteo a una solución enfriada (0 °C) de PPh₃ (44 mg) en THF anhidro (1,5 ml) bajo atmósfera de nitrógeno. Luego de agitar durante 30 minutos, se agregó

MeOH (53 μ L) seguido por la adición por goteo del producto obtenido en el paso previo (69 mg) disuelto en THF anhidro (1 ml). La reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 1 hora. Se agregó agua y la capa acuosa se extrajo con EtOAc tres veces. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO_4 y se concentraron. El producto en bruto se purificó en una columna de sílice, usando un gradiente de 0 a 5 % MeOH en DCM, seguido por cromatografía flash en fase inversa, usando un gradiente de ACN/ H_2O 20/80 a 90/10 como eluyente, para obtener 4-(4-[[2,4-bis(trifluorometil)fenoxi]metil]-3-metoxifenil)-6-oxo-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-5-carboxilato de metilo (18 mg). MS(ES^+) m/z 544,4 ($\text{M}+\text{H}^+$)

188:

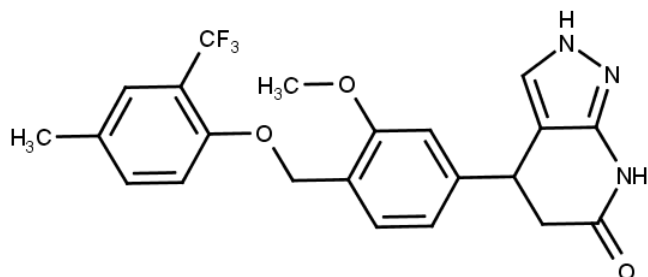
4-(4-[[2,4-bis(trifluorometil)fenoxi]metil]-3-metoxifenil)-*N,N*-dimetil-6-oxo-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-5-carboxamida



i) El producto obtenido en el **Ejemplo 187, paso ii)** (16 mg), DMAP (4,8 mg) y dimetilamina HCl (2,7 mg) se disolvieron en DCM (1 ml) bajo atmósfera de nitrógeno. Se agregó EDC (8,1 mg) y la reacción se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente. Se agregó agua y la capa acuosa se extrajo con DCM tres veces. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre un filtro de separación de fases y se concentraron. El producto se purificó por HPLC preparativa en fase inversa, usando un gradiente de ACN/ H_2O 10/90 a 100/0, para proporcionar 4-(4-[[2,4-bis(trifluorometil)fenoxi]metil]-3-metoxifenil)-*N,N*-dimetil-6-oxo-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-5-carboxamida (6 mg). MS(ES^+) m/z 557,5 ($\text{M}+\text{H}^+$)

189:

4-(3-metoxi-4-[[4-metil-2-(trifluorometil)fenoxi]metil]fenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona



5

i) Análogo al procedimiento descrito en el **Ejemplo 144, paso ii)**, se obtuvo 2-[4-[[4-bromo-2-(trifluorometil)fenoxi]metil]-3-metoxi-fenil]-1,3-dioxolano, partiendo del producto obtenido en el **Ejemplo 96, paso iii)**.

10 ii) Se agregó trimetilboroxina (0,38 ml) y Pd(II)Cl₂(PPh₃)₂ (30 mg) a una suspensión desgasificada del producto obtenido en el paso previo (190 mg) y K₃PO₄ (280 mg) en 1,4-dioxano (1 ml). La reacción se calentó hasta 100 °C durante 1 hora en el microondas. La reacción se diluyó con EtOAc y se lavó con agua, 2N HCl acuoso, 2N NaOH acuoso, agua y salmuera. La fase orgánica se filtró sobre Celite, se secó sobre MgSO₄ y se concentró al vacío para proporcionar 3-metoxi-4-[[4-metil-2-(trifluorometil)fenoxi]metil]fenil]-1,3-dioxolano (164 mg).

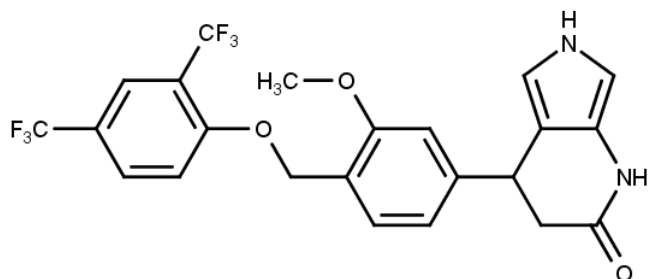
15

iii) Análogo al procedimiento descrito en el **Ejemplo 144, paso iv)**, el compuesto obtenido en el paso anterior (164 mg) se convirtió en 3-metoxi-4-[[4-metil-2-(trifluorometil)fenoxi]metil]benzaldehído (74 mg).

20 iv) Análogo al procedimiento descrito en el **Ejemplo 1, paso ii)**, el compuesto obtenido en el paso anterior (73 mg) se convirtió en 4-(3-metoxi-4-[[4-metil-2-(trifluorometil)fenoxi]metil]fenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona (37 mg). MS(ES⁺) *m/z* 432,4 (M+H)⁺

190:

25 4-(4-[[2,4-bis(trifluorometil)fenoxi]metil]-3-metoxifenil)-1*H*,2*H*,3*H*,4*H*,6*H*-pirrolo[3,4-*b*]piridin-2-ona



i) Siguiendo un procedimiento análogo al descrito para el Ejemplo **96, pasos i)** a **iii)**, usando materiales iniciales apropiados, se obtuvo

4-[[2,4-bis(trifluorometil)fenoxi]metil]-3-metoxibenzaldehído.

- 5 **ii)** Se agregó bromuro de etoxicarbonilmetil)trifenilfosfonio (2,27 g) a una suspensión de *t*BuOK (654 mg) en Et₂O (20 ml). La mezcla resultante se agitó a 50 °C durante 30 minutos y luego se enfrió hasta temperatura ambiente. El compuesto obtenido en el paso anterior (1,01 g) se disolvió en Et₂O (15 ml) y se agregó a la mezcla de reacción. La reacción se agitó hasta el día siguiente, luego se extinguió con agua y la capa acuosa se extrajo con Et₂O tres veces. Las
- 10 capas orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron bajo presión reducida. El producto en bruto se purificó en una columna de sílice, usando un gradiente de 0 a 20 % EtOAc en heptano, para obtener (*E*)-3-[4-[[2,4-bis(trifluorometil)fenoxi]metil]-3-metoxi-fenil]prop-2-enoato de etilo (932 mg).

- iii)** Se agregó bromuro de vinilmagnesio (1,0 M en THF, 6,25 ml) por goteo a una suspensión de
- 15 fenilsulfanilcobre (362 mg) en THF anhidro (10 ml) a -40 °C bajo atmósfera de nitrógeno. La reacción se dejó alcanzar -25 °C y se enfrió nuevamente hasta -40 °C. El compuesto obtenido en el paso anterior (930 mg) en THF anhidro (10 ml) se agregó por goteo y la reacción se agitó durante 15 minutos a -40 °C. La reacción se extinguió vertiendo la mezcla en NH₄Cl acuoso saturado. Los sólidos obtenidos se filtraron y el filtrado se extrajo con EtOAc dos veces. Las capas
- 20 orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron bajo presión reducida. El producto en bruto se purificó en una columna de sílice, usando un gradiente de 0 a 30 % EtOAc en heptano, para obtener 3-[4-[[2,4-bis(trifluorometil)fenoxi]metil]-3-metoxi-fenil]pent-4-enoato de etil etilo (300 mg).

- iv)** El producto obtenido en el paso previo (300 mg), TEMPO (40 mg) y *t*BuONO (167 uL) se
- 25 disolvieron en 1,4-dioxano (5 ml), se calentaron hasta 80 °C y se agitaron durante 2 días. Se agregó agua a la reacción y la capa acuosa se extrajo con DCM tres veces. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron bajo presión reducida. El producto en

bruto se purificó en una columna de sílice, usando un gradiente de 0 a 30 % EtOAc en heptano, para obtener (E)-3-[4-[[2,4-bis(trifluorometil)fenoxi]metil]-3-metoxi-fenil]-5-nitro-pent-4-enoato de etilo (190 mg).

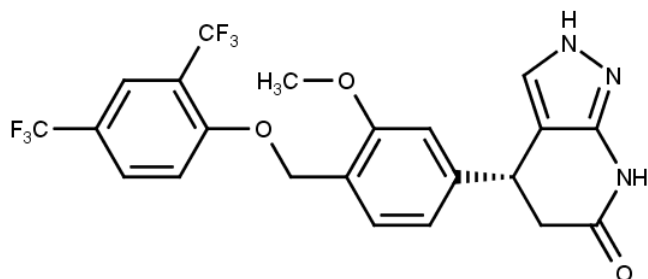
5 **v)** Se agregó TOSMIC (72 mg) a una solución de tBuOK (83 mg) en THF anhidro (1 ml) a -78 °C y se agitó durante 10 minutos. El compuesto obtenido del paso anterior (190 mg) se disolvió en THF anhidro (4 ml) y se agregó por goteo a la mezcla de reacción. Al cabo de 10 minutos de agitación a -78 °C, la reacción se vertió en NH₄Cl acuoso saturado y la capa acuosa se extrajo con EtOAc tres veces. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron bajo presión reducida. El producto en bruto se purificó en una columna de sílice,
10 usando un gradiente de 0 a 50 % EtOAc en heptano, para obtener 3-[4-[[2,4-bis(trifluorometil)fenoxi]metil]-3-metoxi-fenil]-3-(4-nitro-1H-pirrol-3-il)propanoato de etilo (70 mg).

vi) A una solución del compuesto obtenido en el paso anterior (50 mg) en AcOH (1,5 ml) se agregó polvo de zinc (59 mg). La reacción se calentó hasta 50 °C y se agitó durante 30 minutos. La
15 mezcla de reacción se filtró sobre Celite y la torta de filtrado se enjuagó con EtOAc. El filtrado se lavó con NaHCO₃ acuoso saturado y agua, y luego se secó sobre MgSO₄ y se concentró bajo presión reducida. El producto en bruto se purificó en una columna de sílice, usando un gradiente de 0 a 4 % MeOH en DCM, seguido por cromatografía flash en fase inversa, usando un gradiente de 40 a 90 % ACN en H₂O (que contenía 0,1 % TFA), para obtener
20 4-(4-[[2,4-bis(trifluorometil)fenoxi]metil]-3-metoxifenil)-1H,2H,3H,4H,6H-pirrol[3,4-b]piridin-2-ona (11 mg).

MS(ES⁺) *m/z* 485,4 (M+H)⁺

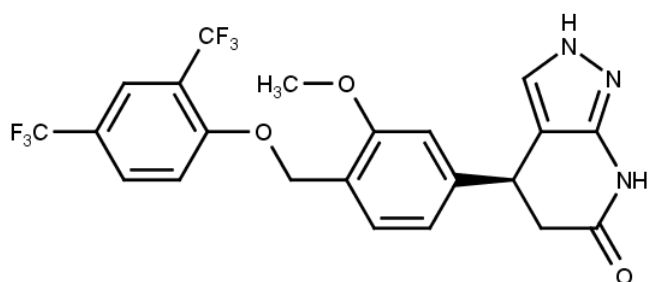
191: (4R)-4-(4-[[2,4-bis(trifluorometil)fenoxi]metil]-3-metoxifenil)-2H,4H,5H,6H,7H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona
25

[(+)-4-(4-[[2,4-bis(trifluorometil)fenoxi]metil]-3-metoxifenil)-2H,4H,5H,6H,7H-pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona]



192: (4*S*)-4-(4-([2,4-bis(trifluorometil)fenoxi]metil)-3-metoxifenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona

5 [(-)-4-(4-([2,4-bis(trifluorometil)fenoxi]metil)-3-metoxifenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona]



Los enantiómeros simples del **Ejemplo 100** se pueden obtener mediante separación quiral. Se disolvió 20 mg del **Ejemplo 100** racémico en 1 ml de IPA. La solución se inyectó en la HPCL preparativa quiral usando una columna AD y un gradiente isocrático de 5 % EtOH, 12 % IPA y 83 % heptano, para obtener 7 mg del (+)enantiómero (**Ejemplo 191**) y 7 mg del (-)enantiómero (**Ejemplo 192**).

La configuración absoluta de los compuestos de los **Ejemplos 193 a 220** no se conoce. Estos compuestos se caracterizan por su rotación óptica, usando un polarímetro.

15 Siguiendo un procedimiento análogo al descrito para los Ejemplos **191** y **192**, usando materiales iniciales apropiados y un método de HPLC, se prepararon los siguientes compuestos.

193: (+)-4-(4-([4-cloro-2-(trifluorometil)fenoxi]metil)-3-metoxifenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo [3,4-*b*]piridin-6-ona

20 **194:** (-)-4-(4-([4-cloro-2-(trifluorometil)fenoxi]metil)-3-metoxifenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo [3,4-*b*]piridin-6-ona

195:

(+)-4-(4-{[4-(difluorometil)-2-(trifluorometil)fenoxi]metil}-3-metoxifenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo
[3,4-*b*]piridin-6-ona

196: (–

5)-4-(4-{[4-(difluorometil)-2-(trifluorometil)fenoxi]metil}-3-metoxifenil)-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-pirazolo
[3,4-*b*]piridin-6-ona

197: (+)–4–(3–metoxi–4–{[4–metoxi–2–(trifluorometil)fenil]metoxi}fenil)–2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*–
pirazolo[3,4–*b*]piridin–6–ona

10 **198:** (–)–4–(3–metoxi–4–{[4–metoxi–2–(trifluorometil)fenil]metoxi}fenil)–2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*–
pirazolo[3,4–*b*]piridin–6–ona

199: (+)–4–(4–{[4–acetil–2–(trifluorometil)fenil]metoxi}–3–metoxifenil)–2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*–
pirazolo[3,4–*b*]piridin–6–ona

200: (–)–4–(4–{[4–acetil–2–(trifluorometil)fenil]metoxi}–3–metoxifenil)–2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*–
pirazolo[3,4–*b*]piridin–6–ona

15 **201:** (+)–7–(3–metoxi–4–{[4–metoxi–2–(trifluorometil)fenil]metoxi}fenil)–3*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*–
[1,2,3]triazolo[4,5–*b*]piridin–5–ona

202: (–)–7–(3–metoxi–4–{[4–metoxi–2–(trifluorometil)fenil]metoxi}fenil)–3*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*–
[1,2,3]triazolo[4,5–*b*]piridin–5–ona

20 **203:** (+)–4–(4–{[4–amino–2–(trifluorometil)fenil]metoxi}–3–metoxifenil)–2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*–
pirazolo[3,4–*b*]piridin–6–ona

204: (–)–4–(4–{[4–amino–2–(trifluorometil)fenil]metoxi}–3–metoxifenil)–2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*–
pirazolo[3,4–*b*]piridin–6–ona

205: (+)–7–(4–{[4–amino–2–(trifluorometil)fenil]metoxi}–3–metoxifenil)–2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*–
[1,2,3]triazolo[4,5–*b*]piridin–5–ona

25 **206:** (–)–7–(4–{[4–amino–2–(trifluorometil)fenil]metoxi}–3–metoxifenil)–2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*–
[1,2,3]triazolo[4,5–*b*]piridin–5–ona

207: (+)–4–(4–{[4–etil–2–(trifluorometil)fenil]metoxi}–3–metoxifenil)–2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*–
pirazolo[3,4–*b*]piridin–6–ona

30 **208:** (–)–4–(4–{[4–etil–2–(trifluorometil)fenil]metoxi}–3–metoxifenil)–2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*–
pirazolo[3,4–*b*]piridin–6–ona

209: (+)–4–(4–{[4–hidroxi–2–(trifluorometil)fenil]metoxi}–3–metoxifenil)–2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*–
pirazolo[3,4–*b*]piridin–6–ona

- 210:** (–)–4–(4–{[4–hidroxi–2–(trifluorometil)fenil]metoxi}–3–metoxifenil)–2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*–pirazolo[3,4–*b*]piridin–6–ona
- 211:** (+)–4–(4–{[4–(2–hidroxietil)–2–(trifluorometil)fenil]metoxi}–3–metoxifenil)–2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*–pirazolo[3,4–*b*]piridin–6–ona
- 5 **212:** (–)–4–(4–{[4–(2–hidroxietil)–2–(trifluorometil)fenil]metoxi}–3–metoxifenil)–2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*–pirazolo[3,4–*b*]piridin–6–ona
- 213:** (+)–4–(3–metoxi–4–{[4–metil–2–(trifluorometil)fenoxi]metil}fenil)–2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*–pirazolo[3,4–*b*]piridin–6–ona
- 214:** (–)–4–(3–metoxi–4–{[4–metil–2–(trifluorometil)fenoxi]metil}fenil)–2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*–pirazolo
- 10 [3,4–*b*]piridin–6–ona
- 215:** (+)–4–(4–{[2–(difluorometil)–4–(trifluorometil)fenoxi]metil}–3–metoxifenil)–2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*–pirazolo[3,4–*b*]piridin–6–ona
- 216:** (–)–4–(4–{[2–(difluorometil)–4–(trifluorometil)fenoxi]metil}–3–metoxifenil)–2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*–pirazolo
- 15 [3,4–*b*]piridin–6–ona
- 217:** (+)–4–(4–{[2,4–bis(difluorometil)fenoxi]metil}–3–metoxifenil)–2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*–pirazolo[3,4–*b*]piridin–6–ona
- 218:** (–)–4–(4–{[2,4–bis(difluorometil)fenoxi]metil}–3–metoxifenil)–2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*–pirazolo
- 20 [3,4–*b*]piridin–6–ona
- 219:** (+)–4–(4–{[2,4–dimetilfenoxi]metil}–3–metoxifenil)–2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*–pirazolo[3,4–*b*]piridin–6–ona
- 220:** (–)–4–(4–{[2,4–dimetilfenoxi]metil}–3–metoxifenil)–2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*–pirazolo[3,4–*b*]piridin–6–ona
- 25

Ejemplo 221

Ensayo ERRα AlphaScreen

Este ensayo se basó en el conocimiento de que los receptores nucleares interactúan con cofactores en una materia dependiente de ligando. Los sitios de interacción se han mapeado con

30 motivos LXXLL que están presentes en las secuencias coactivadoras. Las secuencias peptídicas cortas que contienen el motivo LXXLL imitan el comportamiento de los coactivadores de longitud completa.

El ensayo ERR α AlphaScreen descrito aquí se basa en la interacción del péptido coactivador con el dominio de unión a ligando ERR α (ERR α -LBD) expresado en bacterias purificado; tras la unión al ligando, la proteína ERR α puede sufrir un cambio conformacional que causa una pérdida de unión del coactivador.

- 5 Los compuestos de la presente invención fueron evaluados en cuanto a su capacidad para interrumpir la unión de la proteína ERR α -LBD al péptido coactivador utilizando la tecnología AlphaScreen® (Perkin Elmer). La proteína ERR α -LBD se expresó en *E. coli* como una fusión 6xHis Modificador Pequeño Similar a la Ubiquitina (SUMO). La proteína 6His-SUMO-ERR α -LBD expresada en bacterias se purificó mediante cromatografía de afinidad. Todos los experimentos
- 10 se realizaron a temperatura ambiente en placas blancas sin unión de 384 pocillos (Greiner) utilizando Tris-HCl 50 mM pH 7,5, NaCl 100 mM, Pluronic F-127 al 0,1 %, BSA al 0,05 % y TCEP 5 mM como tampón. La concentración final de DMSO fue del 1 % en el ensayo. Los compuestos se analizaron por triplicado y se incubaron con 0,81 nM de proteína ERR α -LBD y 10 μ g/ml de perlas donantes de estreptavidina y 10 μ g/ml de perlasceptoras de quelato de Ni durante 1 hora
- 15 a temperatura ambiente, seguido por una incubación de 2 horas con 15 nM de péptido biotina-PGC1 α -3 (QRRPCSELLKILTTNDDPP) correspondiente a los aminoácidos 202 a 220.

La señal AlphaScreen se midió usando un lector de placas Envision Xcite (Perkin Elmer). Los datos se normalizaron, y el análisis de ajuste de la curva se realizó en GraphPad Prism 7 utilizando un ajuste de dosis-respuesta de cuatro parámetros.

- 20 Como se anotaron múltiples valores de IC₅₀ para el mismo par compuesto-proteína, se determinó una pIC₅₀ media para cada compuesto. Se encontró que todos los compuestos de Fórmula I ejemplificados (Ejemplos **1 – 220**) tenían valores medios de pIC₅₀ mayores o iguales a 5.

- Los Ejemplos **11, 18, 21, 22, 25, 28, 29, 30, 31, 37, 39, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 58, 60, 63, 66, 67, 76, 77, 78, 79, 80, 82, 86, 88, 94, 95, 110, 113, 114, 118, 120, 121, 125, 126, 127, 130, 131, 132,**
- 25 **137, 140, 147, 148, 150, 151, 160, 161, 162, 165, 167, 168, 172, 183, 184, 187, 188, 191, 199, 215, 217 y 219** tuvieron valores de pIC₅₀ medios mayores o iguales a 6 pero menores a 7.

- Los Ejemplos **2, 4, 9, 14, 17, 20, 26, 34, 35, 43, 44, 45, 59, 64, 65, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 85, 87, 92, 93, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 111, 112, 116, 117, 128, 139, 152, 153, 156, 159, 163, 164, 171, 181, 182, 190, 193, 195, 201, 203, 206, 209, 211, 213 y 216** tuvieron valores de
- 30 pIC₅₀ medios mayores o iguales a 7 pero menores a 8.

Los Ejemplos **1, 8, 15, 19, 23, 24, 32, 33, 36, 40, 41, 42, 62, 68, 89, 90, 91, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 115, 119, 135, 136, 138, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 149, 154, 155, 157, 166, 169,**

170, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 186, 189, 192, 194, 196, 197, 198, 200, 202, 204, 205, 207, 208, 210, 212, 214, 218 y 220 tuvieron valores de plC_{50} medios mayores o iguales a 8.

Ejemplo 222

Ensayo de gen reportero $ERR\alpha$ de longitud completa

5 Los inhibidores de los Ejemplos 1, 4, 5, 8, 9, 13, 14, 15, 17, 18, 19, 20, 23, 24, 26, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 51, 54, 57, 59, 62, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 82, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 115, 116, 117, 119, 128, 130, 132, 135, 136, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 149, 150, 152, 153, 155, 10 156, 157, 159, 160, 161, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 186, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219 y 220 fueron evaluados en cuanto a su capacidad para inhibir la actividad de $ERR\alpha$ en un ensayo de gen reportero $ERR\alpha$ de longitud completa.

15 Se estableció un método para detectar cuantitativamente la potencia de los compuestos con actividad agonista inversa en el receptor nuclear $ERR\alpha$ de la especie humana. El ensayo permite la detección intracelular de agonistas inversos de $ERR\alpha$ en células SK-BR-3 utilizando un constructo de sobreexpresión que codifica $ERR\alpha$ de longitud completa y un constructo reportero que contiene un Elemento de Respuesta (RE) de $ERR\alpha$ y un gen de luciferasa para la lectura. La 20 actividad se expresa en valores $\log IC_{50}$ y se puede usar para determinar el SAR de las familias de compuestos o para deseleccionar compuestos.

En este ensayo, las células reporteras se obtienen por cotransfección transitoria de dos constructos en células SK-BR-3 usando técnicas de transfección estándar. El primer constructo contiene un elemento de respuesta del receptor nuclear $ERR\alpha$ (Plásmido pLP2175, constructo 25 Reportero $ERR\alpha$ -RE/luc2P, variante clonada de $ERR\alpha$ _v2_synthRE, Switchgear Genomics, número de catálogo S900089). Esta secuencia impulsa la transcripción del gen reportero de luciferasa en respuesta a la unión de una proteína $ERR\alpha$ codificada por el segundo constructo (Plásmido pLP2124: constructo de expresión de $ERR\alpha$ de longitud completa usando pcDNA3.1/Hygro(+)) como fondo, número de catálogo de Invitrogen V87020). El $ERR\alpha$ de longitud 30 completa sobreexpresado es constitutivamente activo, por lo tanto, la expresión de luciferasa es reducida por los agonistas inversos del $ERR\alpha$ receptor nuclear.

El día después de la transfección, las células se colocaron en placas de 96 pocillos, el compuesto de ensayo se añadió, y las placas se incubaron hasta el día siguiente. Posteriormente, la actividad de luciferasa de luciérnaga se cuantificó usando reactivo de detección de luciferasa y lectura de luminiscencia.

5 Descripción detallada del ensayo

La transfección se realiza en células SK-BR-3 previamente sembradas en un matraz T175. Un matraz T175 transfectado es suficiente para sembrar de 3 a 4 placas MW96 al día siguiente, dependiendo de la confluencia de las células transfectadas.

Se utilizan dos medios diferentes en este protocolo para el tratamiento celular: 1) Medio de cultivo, es decir, McCoy's 5a con fenol rojo (proveedor BioWhittaker número 12-688F), 10 % FBS y 1x Penstrep.; y 2) Medio de ensayo, es decir, McCoy's 5a Medio libre de fenol rojo (HyClone Product código SH30270.01) con 2 % FBS sin carbón y 1x Penstrep. Las diluciones del compuesto se preparan en medio de ensayo.

Las células se siembran al menos 2 días antes para permitir que se adhieran bien al matraz antes de la transfección. Las células deben tener un 50-80 % de confluencia el día de la transfección.

Las células SKBR3 se transfectaron con el constructo reportero transcripcional pLP2175 y el constructo de expresión de ERR α pLP2124 (como se describió anteriormente).

Se agregó 68 μ L de reactivo de transfección Lipofectamine LTX (número de catálogo Invitrogen 15338-100) por goteo a 8,9 ml de medio de suero reducido Opti-MEM I (número de catálogo Gibco 51985-026) y se incubó a temperatura ambiente durante 5 a 20 minutos. Se añadieron 8,9 ml de esta mezcla de reactivos a 22 μ g de pLP2175 + 22 μ g de pLP2124 (relación 1:1 y volumen total 10 ml), y se incubó a temperatura ambiente durante 25 minutos.

Diez minutos antes de agregar la mezcla de transfección a las células SKBR3 en un matraz T175, el medio de cultivo se renovó con 20 ml de medio de cultivo. Posteriormente, los 10 ml de mezcla ADN-Opti-MEM-Lipofectamine se añadieron suavemente a las células, seguido por la incubación hasta el día siguiente (16-24 horas) a 37 °C y 5 % de CO₂.

Para cosechar células SKBR3 de un matraz T175, primero se eliminó el medio. Posteriormente, las células se lavaron con solución salina tamponada con fosfato (PBS) (Lonza), después de lo cual se eliminó la PBS. Para disociar las células, se añadió 2 ml de TrypLE Express (Invitrogen) al matraz, seguido por incubación a 37 °C durante 5 minutos. El matraz se golpeó hasta que las células se desprendieron del fondo. Las células se recogieron en 8 ml de medio de cultivo (McCoy's 5a, 10 % FBS, penstrep), para lograr una suspensión celular única. Después del

recuento celular, las células se centrifugaron durante 5 minutos a 300 g. A continuación, los sedimentos celulares se resuspendieron a razón de 25000 células/80 µl de medio de ensayo (McCoy's 5a libre de fenol rojo, 2 % FBS sin carbón, penstrep).

Para la selección de compuestos, las células se cosecharon (como se describe anteriormente).

- 5 Se colocaron en placas 80 µL de suspensión celular (25 000 células) por pocillo en placas de selección de 96 pocillos tratadas con cultivo de tejidos, de fondo plano, blancas (Greiner).

- Los compuestos de ensayo se diluyeron, partiendo de una solución madre de 10 mM de sulfóxido de dimetilo (DMSO), en 3 pasos de dilución. El primer paso de dilución fue una dilución en serie de 12 puntos de 4 veces en DMSO. Estas diluciones se diluyeron adicionalmente 10 veces en
10 medio de ensayo libre de fenol rojo que contenía 2 % de FBS sin de carbón y penstrep. El último paso fue otra dilución de 20 veces en medio de ensayo para obtener una dilución concentrada 5x con una concentración de DMSO del 0,5 %. Como último paso, las diluciones del compuesto se diluyeron 5x en la placa celular.

- La serie de dilución de DMSO consistió en 12 concentraciones, con una concentración final en la
15 placa celular que osciló entre 10 µM y 2,4 fM.

Las placas se incubaron hasta el día siguiente (16–24 horas) a 37 °C y 5 % de CO₂.

- Para la lectura de luciferasa, el reactivo de luciferasa (BriteLite Plus, Perkin Elmer) se llevó a temperatura ambiente. Para cada cavidad de ensayo de las placas de detección, se agregó 100 µL de reactivo BriteLite Plus diluido 2,5 veces, seguido por incubación a temperatura ambiente
20 durante 5 minutos. La señal de luminiscencia de luciferasa se midió usando un lector de microplacas Wallac Victor (Perkin Elmer).

- Los valores de concentración inhibitoria máxima media (IC₅₀) para los compuestos de ensayo se calcularon a partir de la señal de luciferasa usando el software GraphPad Prism (GraphPad Software). Para completar, se anotaron múltiples valores de IC₅₀ para el mismo par de líneas de
25 compuesto–célula y se determinó una pIC₅₀ media para cada compuesto.

- De los compuestos de Fórmula I ejemplificados, los Ejemplos **1, 8, 9, 15, 19, 24, 32, 33, 36, 40, 62, 68, 89, 91, 93, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 106, 107, 115, 119, 140, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 149, 150, 155, 157, 159, 166, 169, 170, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 186, 189, 192, 194, 196, 198, 200, 202, 207, 208, 211, 212 y 214** demostraron tener valores medios de pIC₅₀
30 mayores o iguales a 6,5.

Ejemplo 223

Modelo de ratón singénico de melanoma B16F10

Los inhibidores de los ejemplos **100**, **191**, **192**, **194** y **196** se evaluaron para determinar su capacidad de inhibir el crecimiento tumoral en un modelo de ratón singénico de melanoma B16F10.

- 5 Línea celular y modelo tumoral: modelo de aloinjerto derivado de la línea celular de melanoma B16F10 en ratones C57BL/6.

Las células de melanoma B16F10 de ratón se obtuvieron de la American Type Culture Collection (ATCC), EE. UU. Las células se cultivaron en DMEM (Invitrogen, Catálogo Nro. 31600–034) suplementado con 10 % de FBS (Invitrogen, Catálogo Nro. 10438–026) y 1 % de penicilina
10 estreptomicina (Thermo Fisher Scientific, Catálogo Nro. 15140–122). Para establecer aloinjertos, las células se recolectaron por tripsinización cuando alcanzaron una confluencia de alrededor del 70 al 80 % y 0,1 millones de células B16F10 se suspendieron en 50 µl de medio libre de suero y se mezclaron en una proporción 1:1 con matrigel antes de implantarse por vía subcutánea en el
15 flanco dorsal derecho de los ratones usando una jeringa BD de 1 ml unida a una aguja de calibre 24.

Los injertos de tumor B16F10 se midieron después de 5 días de inoculación celular una vez que se hicieron palpables. Cuando el volumen tumoral promedio alcanzó alrededor de 58 mm³, los animales se dosificaron después de la aleatorización en diferentes grupos de tratamiento, manteniendo el volumen tumoral y el número de animales de tal manera que el volumen tumoral
20 promedio de cada grupo permaneciera igual en todos los grupos. La dosificación se realizó por kilogramo de peso, por vía oral (*per os*, *p.o.*) una vez al día (*quaque die*, *q.d*).

Las dimensiones del tumor –longitud (l) y ancho (b)– se midieron con un calibre el día de la aleatorización de los animales en función del volumen tumoral (Día 1) y tres veces por semana a partir de entonces hasta la finalización del estudio. Los volúmenes tumorales se calcularon
25 utilizando la fórmula $b^2 \times l \times 0,52$, donde l = longitud, b = amplitud (Dusan Djokovic *et al.*, BMC Cancer, 2010, 10:641). La inhibición del crecimiento tumoral se calculó después de normalizar el volumen tumoral en un día dado hasta el Día 1.

La administración de los ítems de ensayo se inició cuando el volumen tumoral alcanzó un promedio de 58 mm³.

- 30 La administración de los ítems de ensayo se realizó hasta el Día 14 y la medición del volumen tumoral se realizó hasta el Día 13 para calcular el porcentaje de inhibición del crecimiento tumoral (TGI). Los resultados del estudio se enumeran en la Tabla 1 a continuación.

Tabla 1

Ejemplo	Dosis Miligramos por kilogramo de peso (mpk) [p.o., q.d]	Volumen tumoral (mm³) Día 13	Inhibición del crecimiento tumoral (%)
Control de vehículo		1801 ± 241	—
100	30	814 ± 117	57
191	30	552 ± 91	72
192	30	518 ± 62	74
194	30	870 ± 152	53
196	30	755 ± 135	60

En vista de la descripción y los ejemplos anteriores, resultará evidente para el especialista en el arte que se pueden realizar modificaciones equivalentes de los mismos sin desviarse del alcance de las reivindicaciones.

5