

INHIBIDOR DE DIACILGLICEROL ACILTRANSFERASA 2

CAMPO DE LA INVENCIÓN

La presente invención se refiere a nuevos compuestos farmacéuticos, composiciones farmacéuticas que contienen los compuestos y el uso de los compuestos para inhibir la actividad de la diacilglicerol aciltransferasa 2 (DGAT2).

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

Las diacilglicerol aciltransferasas (DGAT) catalizan la etapa terminal en la síntesis de triacilglicérido (TAG), específicamente, la esterificación del ácido graso con diacilglicerol, lo que da como resultado la formación de TAG. En mamíferos, se han caracterizado dos enzimas DGAT (DGAT1 y DGAT2). A pesar de que estas enzimas catalizan la misma reacción enzimática, sus secuencias de aminoácidos respectivas no están relacionadas y ocupan familias de genes diferentes. DGAT2 se encuentra altamente expresada en el hígado y los tejidos adiposos y, a diferencia de DGAT1, exhibe una especificidad del sustrato perfecta para diacilglicérido (DAG). La eliminación del gen DGAT2 en roedores da como resultado crecimiento intrauterino defectuoso, lipemia severa, función protectora de la piel deficiente y muerte posnatal temprana. Es evidente que la supresión de DGAT2 genera una regulación descendente de la expresión de múltiples genes que codifican proteínas involucradas en la lipogénesis, que incluye proteínas de unión al elemento regulador del estero 1c (SREBP1c) y esteroil CoA-desaturasa 1 (SCD1). En paralelo, las vías oxidativas se inducen como se demostró mediante una expresión aumentada de genes, tales como carnitina palmitoil transferasa 1 (CPT1). El resultado neto de estos cambios es disminuir los niveles de lípidos DAG y TAG hepáticos que, a su vez, producen una mejor respuesta a la insulina en el hígado. Además, la inhibición de DGAT2 suprime la secreción de VLDL-TAG hepático y genera la reducción en los niveles de colesterol circulantes. Finalmente, los niveles de apolipoproteína de plasma B (APOB) se suprimen, posiblemente debido al suministro reducido de TAG para lipidación de la proteína APOB recientemente sintetizada. Los efectos beneficiosos de la inhibición de DGAT2 en el control glucémico y el perfil de colesterol en plasma sugieren que este objetivo es valioso en el tratamiento de enfermedades metabólicas (Choi, C. S. *et.al.* 2007. *J Biol Chem* **282**: 22678-22688).

Además, la observación de que la supresión de los resultados de la actividad de DGAT2 en acumulación de lípidos hepáticos reducida sugiere que los inhibidores de

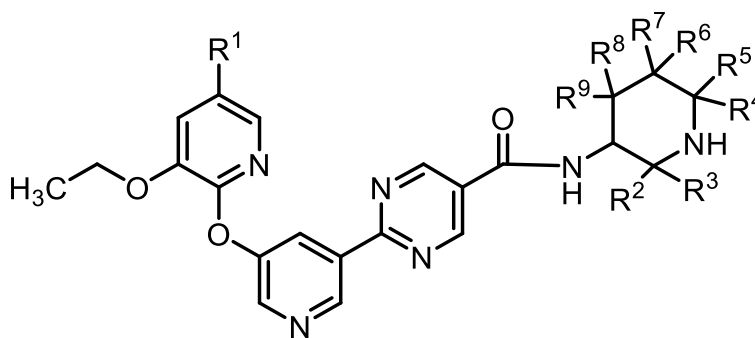
esta enzima pueden ser útiles en el tratamiento de esteatohepatitis no alcohólica (NASH), una enfermedad hepática muy frecuente caracterizada por la deposición de exceso de grasa en el hígado.

En los últimos años, se informaron varios inhibidores de moléculas pequeñas de DGAT2 en la literatura y las solicitudes de patente (WO2013150416, WO2013137628, US20150259323, WO2015077299, WO2016036633, WO2016036638, WO2016036636). Recientemente, la solicitud PCT comúnmente asignada PCT/IB2017/054862 se publicó como WO2018/033832 el 22 de febrero de 2018 divulgando inhibidores de moléculas pequeñas de DGAT2.

No obstante, aún es necesario hallar agentes farmacéuticos que tengan actividad inhibidora de DGAT2 y sean útiles para el tratamiento, la prevención o la disminución de las manifestaciones de las enfermedades descritas en la presente. Además, aún existe la necesidad de inhibidores de DGAT2 con propiedades farmacocinéticas mejoradas tales como solubilidad, depuración y semivida. Una mayor semivida en seres humanos puede resultar de una menor depuración y/o mayor volumen de distribución.

SÍNTESIS DE LA INVENCION

La presente solicitud se refiere a compuestos de la Fórmula (I)



(I)

en donde

R¹ es H o fluoro;

R², R³, R⁴ y R⁵ se seleccionan, cada uno independientemente, de H, (C₁-C₃)alquilo, (C₁-C₃)fluoroalquilo, (C₁-C₃)hidroxialquilo, y -(C₁-C₃)alquil-(C₁-C₂)alcoxi; y

R⁶, R⁷, R⁸ y R⁹ se seleccionan, cada uno independientemente, de H, fluoro, hidroxilo, (C₁-C₃)alquilo, (C₁-C₃)fluoroalquilo, (C₁-C₃)hidroxialquilo, (C₁-C₂)alcoxi, (C₁-C₂)fluoroalcoxi, y -(C₁-C₃)alquil-(C₁-C₂)alcoxi; y

en donde 0, 1 o 2 de R², R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷, R⁸ y R⁹ son distintos de H;

o una sal de estos aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

La presente invención también se refiere a métodos para tratar hepatopatía grasa, hepatopatía grasa no alcohólica, esteatohepatitis no alcohólica, esteatohepatitis no alcohólica con fibrosis hepática, esteatohepatitis no alcohólica con cirrosis o esteatohepatitis no alcohólica con cirrosis y carcinoma hepatocelular que incluyen administrar a un mamífero, tal como un ser humano, que necesita dicho tratamiento una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la Fórmula (I) o (II) o una sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico de dicho compuesto.

La presente invención también se refiere a métodos para tratar insuficiencia cardíaca, insuficiencia cardíaca congestiva, cardiopatía coronaria, enfermedad vascular periférica, enfermedad vascular renal, hipertensión pulmonar, vasculitis, síndromes coronarios agudos y modificación de riesgo cardiovascular que incluye administrar a un mamífero, tal como un ser humano, que necesita dicho tratamiento una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la Fórmula (I) o (II) o una sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico de dicho compuesto.

La presente invención también se refiere a métodos para tratar diabetes tipo I, diabetes mellitus tipo II, diabetes tipo I idiopática (tipo Ib), diabetes autoinmune latente en adultos (LADA), diabetes tipo 2 de inicio temprano (EOD), diabetes atípica de inicio en la juventud (YOAD), diabetes juvenil de inicio en la madurez (MODY), diabetes relacionada con la malnutrición, diabetes gestacional, cardiopatía coronaria, apoplejía isquémica, reestenosis después de la angioplastia, enfermedad vascular periférica, claudicación intermitente, infarto de miocardio, dislipidemia, lipemia posprandial, afecciones relacionadas con la intolerancia a la glucosa (IGT), afecciones relacionadas con la alteración de la glucosa en plasma en ayunas, acidosis metabólica, cetosis, artritis, retinopatía diabética, degeneración macular, cataratas, nefropatía diabética, glomeruloesclerosis, insuficiencia renal crónica, neuropatía diabética, síndrome metabólico, síndrome X, hiperglucemia, hiperinsulinemia, hipertrigliceridemia, resistencia a la insulina, alteración del metabolismo de la glucosa, afecciones de la piel y del tejido conectivo, úlceras de pie y colitis ulcerosa, disfunción endotelial y alteraciones de la distensibilidad vascular, hiper lipoproteinemia apo B, y enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce que incluye administrar a un mamífero, tal como un ser humano, que necesita dicho tratamiento una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la Fórmula (I) o (II) o una sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico de dicho compuesto.

La presente invención también se refiere a un método para tratar carcinoma hepatocelular, carcinoma renal de células claras, carcinoma de células escamosas de

cabeza y cuello, adenocarcinoma colorrectal, mesotelioma, adenocarcinoma de estómago, carcinoma adrenocortical, carcinoma renal de células papilares, carcinoma de cuello uterino y endocervical, carcinoma urotelial de vejiga o adenocarcinoma pulmonar que comprende administrar a un mamífero, tal como un ser humano, que necesita dicho tratamiento una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la Fórmula (I) o (II) o una sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico de dicho compuesto.

La presente invención también se refiere a un método para la reducción de al menos uno o más puntos en gravedad del puntaje de la actividad de hepatopatía grasa no alcohólica (NAFLD) (NAS) desde el valor inicial que comprende la etapa de medir el NAS inicial en un ser humano, administrar a dicho ser humano una cantidad eficaz de un compuesto de la Fórmula (I) o (II) o una sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico de dicho compuesto, y medir el NAS en dicho ser humano.

La presente invención también se refiere a composiciones farmacéuticas que tienen una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la Fórmula (I) o (II) o una sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico de dicho compuesto, y un portador, un vehículo o un diluyente aceptables desde el punto de vista farmacéutico.

La presente invención también se refiere a composiciones de combinación farmacéutica que incluyen: una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que tiene:

un primer compuesto, en donde dicho primer compuesto es un compuesto de la Fórmula (I) o (II), o una sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico de dicho compuesto;

un segundo compuesto, en donde dicho segundo compuesto es un agente antidiabético; un agente de tratamiento de esteatohepatitis no alcohólica, un agente de tratamiento de hepatopatía grasa no alcohólica o un agente de tratamiento contra la insuficiencia cardíaca y

un portador, vehículo o diluyente farmacéutico.

Cabe destacar que tanto la descripción general anterior y la siguiente descripción detallada se incluyen solo con fines explicativos y a modo de ejemplo y no restringen el alcance de la invención, como se reivindica.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La Figura 1 es un patrón de difracción de rayos X de polvo característico que muestra el Ejemplo 4, Forma 1 (eje vertical: intensidad (CPS); eje horizontal: dos zeta (grados)).

La Figura 2 es un patrón de difracción de rayos X de polvo característico que muestra el Ejemplo 4, sal de clorhidrato, Forma 1 (eje vertical: intensidad (CPS); eje horizontal: dos zeta (grados)).

La Figura 3 es un patrón de difracción de rayos X de polvo característico que muestra el Ejemplo 4, sal de p-toluensulfonato, anhidra, Forma 1 (eje vertical: intensidad (CPS); eje horizontal: dos zeta (grados)).

La Figura 4 representa los efectos de dosis múltiples del Ejemplo 4 en triglicérido en plasma en ratas Sprague-Dawley alimentadas con dieta de patrón occidental (eje vertical: triglicérido en plasma (mg/dl), eje horizontal: dosis BID de dieta de patrón occidental (mg/kg)).

La Figura 5 representa los efectos de dosis múltiples del Ejemplo 4 en triglicérido hepático en ratas Sprague-Dawley alimentadas con dieta de patrón occidental (eje vertical: triglicérido hepático ($\mu\text{g}/\text{mg}$), eje horizontal: dosis BID de dieta de patrón occidental (mg/kg)).

La Figura 6 es un patrón de difracción de rayos X de polvo característico que muestra la Preparación P1, Forma 1 (eje vertical: intensidad (CPS); eje horizontal: dos zeta (grados)).

La Figura 7 es un patrón de difracción de rayos X de polvo característico que muestra la Preparación P1, Forma 2 (eje vertical: intensidad (CPS); eje horizontal: dos zeta (grados)).

La Figura 8 es un patrón de difracción de rayos X de polvo característico que muestra la Preparación P1, Forma 3 (eje vertical: intensidad (CPS); eje horizontal: dos zeta (grados)).

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

La presente invención se puede comprender con mayor facilidad por referencia a la siguiente descripción detallada de formas de realización de ejemplo de la invención y los ejemplos incluidos en ella.

Cabe destacar que la presente invención no se limita a métodos de realización de síntesis específicos que, por supuesto, pueden variar. Cabe destacar también que la terminología que se usa en la presente tiene como finalidad describir solamente formas de realización particulares y no pretende ser limitativa. En la presente memoria descriptiva y en las reivindicaciones adjuntas, se hace referencia a diversos términos que tienen los siguientes significados:

Como se usa en la presente, en la memoria descriptiva, "un" o "uno" pueden significar uno o más. Como se usa en la presente, en las reivindicaciones, cuando se

usa junto con la expresión "que comprende", las palabras "un" o "uno" pueden significar uno o más. Como se usa en la presente, "otro" puede significar al menos un segundo o más.

La expresión "alrededor de" se refiere a una expresión relativa que denota una aproximación de más o menos 10 % del valor nominal al que se refiere, en una forma de realización, a más o menos 5 %, en otra forma de realización, a más o menos 2 %. Para el campo de esta divulgación, este nivel de aproximación es adecuado a menos que el valor se indique específicamente para requerir un rango más estrecho.

Cuando se usa en la presente, "compuestos" incluye cualquier derivado o variación aceptables desde el punto de vista farmacéutico, que incluyen isómeros conformacionales (por ejemplo, isómeros cis y trans) y todos los isómeros ópticos (por ejemplo, enantiómeros y diastereómeros), mezclas racémicas, diastereómeras y otras mezclas de tales isómeros, así como solvatos, hidratos, isomorfos, polimorfos, tautómeros, ésteres, formas de sal, y profármacos. El término "profármaco" se refiere a compuestos que son precursores de fármacos que, luego de la administración, liberan el fármaco *in vivo* mediante algún proceso químico o fisiológico (por ejemplo, un profármaco, al llevarse al pH fisiológico o a través de acción enzimática, se convierte en la forma farmacológica deseada).

El término "alquilo", solo o en combinación, significa un grupo hidrocarburo acíclico saturado de la fórmula C_nH_{2n+1} que puede ser lineal o ramificado. Los ejemplos de dichos grupos incluyen, entre otros, metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, butilo, sec-butilo, isobutilo y t-butilo. El contenido del átomo de carbono de alquilo y otras porciones distintas que contienen hidrocarburo se indica mediante un prefijo que designa una cantidad menor y mayor de átomos de carbono en la porción, es decir, el prefijo Ci-Cj indica una porción del entero "i" al entero "j" de átomos de carbono, inclusive. De esta manera, por ejemplo, C₁-C₃ alquilo se refiere a alquilo de 1 a 3 átomos de carbono, inclusive.

"Fluoroalquilo" significa un alquilo como se define en la presente sustituido con 1, 2 o 3 átomos de fluoro. Los ejemplos de compuestos de (C₁)fluoroalquilo incluyen fluorometilo, difluorometilo y trifluorometilo; los ejemplos de compuestos de (C₂)fluoroalquilo incluyen 1-fluoroetilo, 2-fluoroetilo, 1,1-difluoroetilo, 1,2-difluoroetilo, 1,1,1-trifluoroetilo, 1,1,2-trifluoroetilo, y similares.

"Hidroxialquilo" significa un alquilo como se define en la presente sustituido con un átomo. Los compuestos de hidroxialquilo de ejemplo incluyen hidroximetilo, 1-hidroxietilo, 2-hidroxietilo y similares.

“Alcoxi” significa alquilo saturado de cadena lineal o alquilo saturado de cadena ramificada unido por un oxi. Los ejemplos de grupos alcoxi (si se considera que la longitud indicada abarca el ejemplo particular) son metoxi, etoxi, propoxi, isopropoxi, butoxi, isobutoxi, butoxi terciario, pentoxi, isopentoxi, neopentoxi, pentoxi terciario, hexoxi, isohexoxi, heptoxi y octoxi.

“Fluoroalcoxi” significa un alcoxi como se define en la presente sustituido con 1, 2 o 3 átomos de fluoro. Los ejemplos de compuestos de (C₁)fluoroalcoxi incluyen fluorometoxi, difluorometoxi y trifluorometoxi; los compuestos de ejemplo de (C₂)fluoroalquilo incluyen 1-fluoroetoxi, 2-fluoroetoxi, 1,1-difluoroetoxi, 1,2-difluoroetoxi, 1,1,1-trifluoroetoxi, 1,1,2-trifluoroetoxi y similares.

El término “paciente” se refiere a animales de sangre caliente, tales como cobayos, ratones, ratas, jerbos, gatos, conejos, perros, ganado, cabras, ovejas, caballos, monos, chimpancés y seres humanos.

La expresión “aceptable desde el punto de vista farmacéutico” significa que la sustancia (por ejemplo, los compuestos de la invención) y cualquier sal de esta, o composición que contiene la sustancia o sal de la invención, es adecuada para administrar a un paciente.

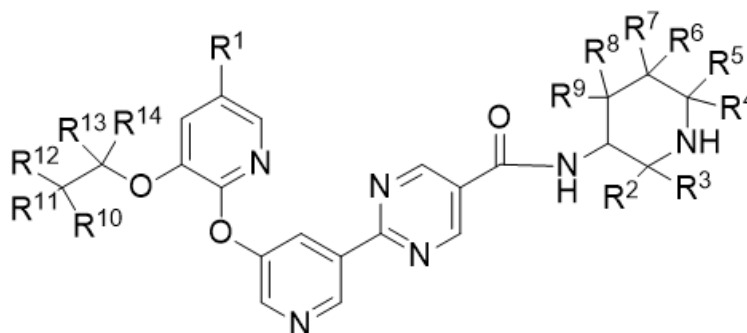
Como se usan en la presente, las expresiones “solvente inerte a la reacción” y “solvente inerte” se refieren a un solvente o una mezcla de estos que no interactúa con los materiales de inicio, reactivos, intermediarios o productos de manera que perjudique el rendimiento del producto deseado.

Como se usan en la presente, los términos “selectividad” o “selectivo” se refieren a un mayor efecto de un compuesto en un primer ensayo, en comparación con el efecto del mismo compuesto en un segundo ensayo. Por ejemplo, en compuestos “selectivos para intestino”, el primer ensayo es para la semivida del compuesto en el intestino, y el segundo ensayo es para la semivida del compuesto en el hígado.

“Cantidad terapéuticamente eficaz” significa una cantidad de un compuesto de la presente invención que (i) trata o previene la enfermedad, afección o trastorno particulares, (ii) atenúa, mejora o elimina uno o más síntomas de la enfermedad, afección o trastorno particulares, o (iii) previene o retrasa el inicio de uno o más síntomas de la enfermedad, afección o trastorno particulares que se describen en la presente.

Como se usan en la presente, las expresiones “que trata”, “tratar” o “tratamiento” abarcan tanto el tratamiento preventivo, es decir, profiláctico, como el paliativo, es decir, para aliviar o retrasar el progreso de la enfermedad (o afección) del paciente o cualquier daño tisular asociado a la enfermedad;

La presente solicitud también se refiere a compuestos de la Fórmula (II)



(II)

en donde:

R¹ es H o fluoro;

R², R³, R⁴ y R⁵ se seleccionan, cada uno independientemente, de H, (C₁-C₃)alquilo, (C₁-C₃)fluoroalquilo, (C₁-C₃)hidroxialquilo, y -(C₁-C₃)alquil-(C₁-C₂)alcoxi;

R⁶, R⁷, R⁸ y R⁹ se seleccionan, cada uno independientemente, de H, fluoro, hidroxilo, (C₁-C₃)alquilo, (C₁-C₃)fluoroalquilo, (C₁-C₃)hidroxialquilo, (C₁-C₂)alcoxi, (C₁-C₂)fluoroalcoxi, y -(C₁-C₃)alquil-(C₁-C₂)alcoxi; y

R¹⁰, R¹¹, R¹², R¹³ y R¹⁴ se seleccionan, cada uno independientemente, de H y deuterio; y

en donde 0, 1 o 2 de R², R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷, R⁸ y R⁹ son distintos de H;

o una sal de estos aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

Una forma de realización de la presente invención incluye compuestos de la Fórmula (I) o (II) en donde R², R³, R⁴ y R⁵ se seleccionan, cada uno independientemente, de H y (C₁)fluoroalquilo y R⁶, R⁷, R⁸ y R⁹ se seleccionan, cada uno independientemente, de H, (C₁)fluoroalquilo, y fluoro; en donde 0, 1 o 2 de R², R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷, R⁸ y R⁹ son distintos de H; o una sal de estos aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

Otra forma de realización de la presente invención incluye compuestos de la Fórmula (I) o (II) en donde R², R³, R⁴, R⁵, R⁶ y R⁷ son H; y R⁸ y R⁹ se seleccionan independientemente de H, (C₁)fluoroalquilo y fluoro; en donde al menos uno de R⁸ y R⁹ es (C₁)fluoroalquilo o fluoro; o una sal de estos aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

Otra forma de realización de la presente invención incluye compuestos de la Fórmula (I) o (II) en donde R², R³, R⁴, R⁵, R⁸ y R⁹ son H; y R⁶ y R⁷ se seleccionan, cada uno independientemente, de H, (C₁)fluoroalquilo y fluoro en donde al menos uno de R⁶ y R⁷ es (C₁)fluoroalquilo o fluoro; o una sal de estos aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

Otra forma de realización de la presente invención incluye compuestos de la Fórmula (I) o (II) en donde R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 y R^9 son H; y R^7 y R^8 se seleccionan, cada uno independientemente, de H, (C_1) fluoroalquilo y fluoro en donde al menos uno de R^7 y R^8 es (C_1) fluoroalquilo o fluoro; o una sal de estos aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

Otra forma de realización de la presente invención incluye compuestos de la Fórmula (I) o (II) en donde R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^8 y R^9 son H; y R^7 es (C_1) fluoroalquilo o fluoro; o una sal de estos aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

Otra forma de realización de la presente invención incluye compuestos de la Fórmula (I) o (II) en donde R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^8 y R^9 son H; y R^7 es fluoro; o una sal de estos aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

Otra forma de realización de la presente invención incluye un compuesto seleccionado de

2-(5-((3-etoxi-5-fluoropiridin-2-il)oxi)piridin-3-il)-N-((3*R*,4*S*)-4-fluoropiperidin-3-il)pirimidin-5-carboxamida;

2-(5-((3-etoxi-5-fluoropiridin-2-il)oxi)piridin-3-il)-N-((3*S*,5*S*)-5-fluoropiperidin-3-il)pirimidin-5-carboxamida;

2-(5-((3-etoxipiridin-2-il)oxi)piridin-3-il)-N-((3*R*,4*S*)-4-fluoropiperidin-3-il)pirimidin-5-carboxamida;

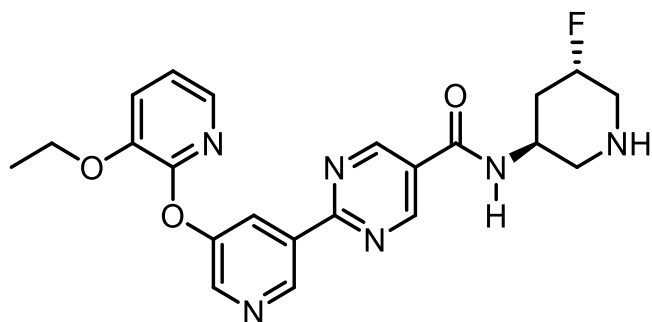
2-(5-((3-etoxipiridin-2-il)oxi)piridin-3-il)-N-((3*R*,4*R*)-4-fluoropiperidin-3-il)pirimidin-5-carboxamida;

2-(5-((3-etoxi-5-fluoropiridin-2-il)oxi)piridin-3-il)-N-((3*R*,4*R*)-4-fluoropiperidin-3-il)pirimidin-5-carboxamida; y

2-(5-((3-etoxipiridin-2-il)oxi)piridin-3-il)-N-((3*S*,5*S*)-5-fluoropiperidin-3-il)pirimidin-5-carboxamida;

o una sal de este aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

Otra forma de realización incluye un compuesto que tiene la siguiente estructura:



o una sal de este aceptable desde el punto de vista farmacéutico y cristales que

incluyen dicho compuesto o una sal de este aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

En otra forma de realización, el compuesto es 2-(5-((3-etoxipiridin-2-il)oxi)piridin-3-il)-N-(5-fluoropiperidin-3-il)pirimidin-5-carboxamida.

Cada Ejemplo o una sal de este aceptable desde el punto de vista farmacéutico se puede reivindicar individualmente o agrupar en cualquier combinación con cualquier cantidad de cada una de las formas de realización descritas en la presente.

Otra forma de realización de la presente invención incluye el uso de un compuesto de la Fórmula (I) o (II) o una sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico de dicho compuesto para el uso como un medicamento, en particular en donde dicho medicamento es para el uso en el tratamiento de hepatopatía grasa, hepatopatía grasa no alcohólica, esteatohepatitis no alcohólica, esteatohepatitis no alcohólica con fibrosis hepática, esteatohepatitis no alcohólica con cirrosis o esteatohepatitis no alcohólica con cirrosis y carcinoma hepatocelular que incluye administrar a un mamífero, tal como un ser humano, que necesita dicho tratamiento una cantidad terapéuticamente eficaz.

Otra forma de realización de la presente invención incluye el uso de un compuesto de la Fórmula (I) o (II) o una sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico de dicho compuesto para la elaboración de un medicamento para tratar hepatopatía grasa, hepatopatía grasa no alcohólica, esteatohepatitis no alcohólica, esteatohepatitis no alcohólica con fibrosis hepática, esteatohepatitis no alcohólica con cirrosis o esteatohepatitis no alcohólica con cirrosis y carcinoma hepatocelular que incluye administrar a un mamífero, tal como un ser humano, que necesita dicho tratamiento una cantidad terapéuticamente eficaz.

Otra forma de realización de la presente invención incluye el uso de un compuesto de la Fórmula (I) o (II) o una sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico de dicho compuesto para el uso como un medicamento, en particular en donde dicho medicamento es para el uso en el tratamiento de insuficiencia cardíaca, insuficiencia cardíaca congestiva, cardiopatía coronaria, enfermedad vascular periférica, enfermedad vasculorrenal, hipertensión pulmonar, vasculitis, síndromes coronarios agudos y modificación de riesgo cardiovascular que incluye administrar a un mamífero, tal como un ser humano, que necesita dicho tratamiento una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la Fórmula (I) o (II) o una sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico de dicho compuesto.

Otra forma de realización de la presente invención incluye el uso de un

compuesto de la Fórmula (I) o (II) o una sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico de dicho compuesto para la elaboración de un medicamento para tratar insuficiencia cardíaca, insuficiencia cardíaca congestiva, cardiopatía coronaria, enfermedad vascular periférica, enfermedad vascular renal, hipertensión pulmonar, vasculitis, síndromes coronarios agudos y modificación de riesgo cardiovascular que incluye administrar a un mamífero, tal como un ser humano, que necesita dicho tratamiento una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la Fórmula (I) o (II) o una sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico de dicho compuesto.

Otra forma de realización de la presente invención incluye el uso de un compuesto de la Fórmula (I) o (II) o una sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico de dicho compuesto para el uso como un medicamento, en particular en donde dicho medicamento es para el uso en el tratamiento de diabetes tipo I, diabetes mellitus tipo II, diabetes tipo I idiopática (tipo Ib), diabetes autoinmune latente en adultos (LADA), diabetes tipo 2 de inicio temprano (EOD), diabetes atípica de inicio en la juventud (YOAD), diabetes juvenil de inicio en la madurez (MODY), diabetes relacionada con la malnutrición, diabetes gestacional, cardiopatía coronaria, apoplejía isquémica, reestenosis después de la angioplastia, enfermedad vascular periférica, claudicación intermitente, infarto de miocardio, dislipidemia, lipemia posprandial, afecciones relacionadas con la intolerancia a la glucosa (IGT), afecciones relacionadas con la alteración de la glucosa en plasma en ayunas, acidosis metabólica, cetosis, artritis, retinopatía diabética, degeneración macular, cataratas, nefropatía diabética, glomeruloesclerosis, insuficiencia renal crónica, neuropatía diabética, síndrome metabólico, síndrome X, hiperglucemia, hiperinsulinemia, hipertrigliceridemia, resistencia a la insulina, alteración del metabolismo de la glucosa, afecciones de la piel y del tejido conectivo, úlceras de pie y colitis ulcerosa, disfunción endotelial y alteraciones de la distensibilidad vascular, hiper lipoproteinemia apo B, y enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce que incluye administrar a un mamífero, tal como un ser humano, que necesita dicho tratamiento una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la Fórmula (I) o (II) o una sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico de dicho compuesto.

Otra forma de realización de la presente invención incluye el uso de un compuesto de la Fórmula (I) o (II) o una sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico de dicho compuesto para la elaboración de un medicamento para tratar diabetes tipo I, diabetes mellitus tipo II, diabetes tipo I idiopática (tipo Ib), diabetes autoinmune latente en adultos (LADA), diabetes tipo 2 de inicio temprano (EOD),

diabetes atípica de inicio en la juventud (YOAD), diabetes juvenil de inicio en la madurez (MODY), diabetes relacionada con la malnutrición, diabetes gestacional, cardiopatía coronaria, apoplejía isquémica, reestenosis después de la angioplastia, enfermedad vascular periférica, claudicación intermitente, infarto de miocardio, dislipidemia, lipemia posprandial, afecciones relacionadas con la intolerancia a la glucosa (IGT), afecciones relacionadas con la alteración de la glucosa en plasma en ayunas, acidosis metabólica, cetosis, artritis, retinopatía diabética, degeneración macular, cataratas, nefropatía diabética, glomeruloesclerosis, insuficiencia renal crónica, neuropatía diabética, síndrome metabólico, síndrome X, hiperglucemia, hiperinsulinemia, hipertrigliceridemia, resistencia a la insulina, alteración del metabolismo de la glucosa, afecciones de la piel y del tejido conectivo, úlceras de pie y colitis ulcerosa, disfunción endotelial y alteraciones de la distensibilidad vascular, hiper lipoproteinemia apo B, y enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce que incluye administrar a un mamífero, tal como un ser humano, que necesita dicho tratamiento una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la Fórmula (I) o (II) o una sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico de dicho compuesto.

Otra forma de realización de la presente invención incluye el uso de un compuesto de la Fórmula (I) o (II) o una sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico de dicho compuesto para el uso como un medicamento, en particular en donde dicho medicamento es para el uso en el tratamiento de carcinoma hepatocelular, carcinoma renal de células claras, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, adenocarcinoma colorrectal, mesotelioma, adenocarcinoma de estómago, carcinoma adrenocortical, carcinoma renal de células papilares, carcinoma de cuello uterino y endocervical, carcinoma urotelial de vejiga o adenocarcinoma pulmonar que comprende administrar a un mamífero, tal como un ser humano, que necesita dicho tratamiento una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la Fórmula (I) o (II) o una sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico de dicho compuesto.

Otra forma de realización de la presente invención incluye el uso de un compuesto de la Fórmula (I) o (II) o una sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico de dicho compuesto para la elaboración de un medicamento para tratar carcinoma hepatocelular, carcinoma renal de células claras, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, adenocarcinoma colorrectal, mesotelioma, adenocarcinoma de estómago, carcinoma adrenocortical, carcinoma renal de células papilares, carcinoma de cuello uterino y endocervical, carcinoma urotelial de vejiga o adenocarcinoma pulmonar que comprende administrar a un mamífero, tal como un ser

humano, que necesita dicho tratamiento una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la Fórmula (I) o (II) o una sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico de dicho compuesto.

Los compuestos de la presente invención pueden contener centros asimétricos o quirales, y, por lo tanto, existen en diferentes formas estereoisoméricas. A menos que se indique lo contrario, se pretende que todas las formas estereoisoméricas de los compuestos de la presente invención así como mezclas de estos, que incluyen mezclas racémicas, formen parte de la presente invención. Además, la presente invención abarca todos los isómeros geométricos y posicionales. Por ejemplo, si un compuesto de la presente invención incorpora un enlace doble o un anillo fusionado, las formas *cis* y *trans*, así como mezclas, se abarcan dentro del alcance de la invención.

Los compuestos quirales de la invención (y precursores quirales de estos) se pueden obtener en forma enantioméricamente enriquecida usando cromatografía, en general, cromatografía de líquidos de alta presión (HPLC) o cromatografía de fluido supercrítico (SFC), en una resina con una fase estacionaria asimétrica y con una fase móvil que consiste en un hidrocarburo, en general, heptano o hexano, que contiene de 0 a 50 % de isopropanol, en general de 2 a 20 %, y de 0 a 5 % de una alquilamina, en general, 0,1 % de dietilamina (DEA) o isopropilamina. La concentración del eluyente genera la mezcla enriquecida. En caso en que se use SFC, la fase móvil puede consistir en un fluido supercrítico, normalmente dióxido de carbono, que contiene 2-50 % de un alcohol, tal como metanol, etanol o isopropanol.

Las mezclas diastereoméricas se pueden separar en sus diastereoisómeros individuales sobre la base de sus diferencias químicas físicas mediante métodos conocidos para las personas del oficio de nivel medio, tal como mediante cromatografía y/o cristalización fraccional. Los enantiómeros se pueden separar al convertir la mezcla enantiomérica en una mezcla diastereomérica mediante la reacción con un compuesto ópticamente activo apropiado (por ejemplo, auxiliar quiral tal como un alcohol quiral o cloruro ácido de Mosher), separar los diastereoisómeros y convertir (por ejemplo, hidrolizar) los diastereoisómeros individuales en los enantiómeros puros correspondientes. Los enantiómeros también se pueden separar mediante el uso de una columna de HPLC quiral. De manera alternativa, los estereoisómeros específicos se pueden sintetizar mediante el uso de un material de inicio ópticamente activo, mediante síntesis asimétrica usando reactivos, sustratos, catalizadores o solventes ópticamente activos, o mediante conversión de un estereoisómero en el otro por transformación asimétrica.

Cuando los compuestos de la presente invención tienen dos o más centros estereogénicos, y la estereoquímica absoluta o relativa se indica en el nombre, las designaciones R y S se refieren, respectivamente, a cada centro estereogénico en orden numérico ascendente (1, 2, 3, etc.) de acuerdo con los esquemas numéricos convencionales IUPAC para cada molécula. Cuando los compuestos de la presente invención tienen uno o más centros estereogénicos y la estereoquímica no se indica en el nombre o la estructura, se entiende que el nombre o la estructura pretenden abarcar todas las formas del compuesto, que incluye la forma racémica.

Los compuestos de la invención pueden contener enlaces doble tipo olefina. Cuando los enlaces están presentes, los compuestos de la invención existen como configuraciones cis y trans y como mezclas de estas. El término “cis” se refiere a la orientación de dos sustituyentes con referencia a cada uno y el plano del anillo (ya sean ambas “ascendentes” o ambas “descendentes”). De manera análoga, el término “trans” se refiere a la orientación de dos sustituyentes con referencia a cada uno y el plano del anillo (los sustituyentes se encuentran en sitios opuestos del anillo).

También es posible que los intermediarios y los compuestos de la presente invención puedan existir en diferentes formas tautoméricas, y todas esas formas se indican dentro del alcance de la invención. Las expresiones “tautómero” o “forma tautomérica” se refieren a isómeros estructurales de diferentes energías que se pueden interconvertir mediante una barrera de energía baja. Por ejemplo, los tautómeros protónicos (también conocidos como tautómeros prototrópicos) incluyen interconversiones mediante la migración de un protón, tal como isomerizaciones de ceto-enol e imina-enamina.

Los tautómeros de valencia incluyen interconversiones mediante la reorganización de algunos de los electrones enlazantes.

Dentro del alcance de los compuestos reivindicados de la presente invención se incluyen todos los estereoisómeros, isómeros geométricos y formas tautoméricas de los compuestos de la Fórmula (I) o (II), que incluyen compuestos que exhiben más de un tipo de isomerismo y mezclas de uno o más de estos. También se incluyen sales de adición ácida o básica, en donde el contraión es ópticamente activo, por ejemplo, D-lactato o L-lisina, o racémico, por ejemplo, DL-tartrato o DL-arginina.

La presente invención incluye todos los compuestos de la Fórmula (I) o (II) etiquetados de manera isotópica aceptables desde el punto de vista farmacéutico, en donde uno o más átomos se reemplazan por átomos que tienen el mismo número atómico, pero una masa atómica o un número de masa diferente de la masa atómica o

del número de masa que se halla habitualmente en la naturaleza.

Los ejemplos de isótopos adecuados para la inclusión en los compuestos de la invención incluyen isótopos de hidrógeno, tales como ^2H y ^3H , de carbono, tales como ^{11}C , ^{13}C y ^{14}C , de cloro, tales como ^{36}Cl , de flúor, tales como ^{18}F , de yodo, tales como ^{123}I , ^{124}I e ^{125}I , de nitrógeno, tales como ^{13}N y ^{15}N , de oxígeno, tales como ^{15}O , ^{17}O y ^{18}O , de fósforo, tales como ^{32}P , y de azufre, tales como ^{35}S .

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

La sustitución con isótopos más pesados, tales como deuterio, es decir, ^2H , puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas que son el resultado de una mayor estabilidad metabólica, por ejemplo, mayor semivida *in vivo* o menos requisitos de dosificación y, por ello, se pueden preferir en algunas circunstancias.

La sustitución con isótopos emisores de positrones, tales como ^{11}C , ^{18}F , ^{15}O y ^{13}N , puede ser útil en estudios de tomografía por emisión de positrones (PET) para evaluar la ocupación del receptor de sustrato.

En general, los compuestos de la Fórmula (I) o (II) etiquetados de manera isotópica se pueden preparar mediante técnicas convencionales conocidas por las personas del oficio de nivel medio o mediante procesos análogos a los descritos en los Ejemplos y Preparaciones adjuntos mediante el uso de reactivos adecuados etiquetados de manera isotópica en lugar del reactivo no etiquetado que se usó previamente.

Los compuestos de la presente invención pueden aislarse y usarse *per se*, o cuando sea posible, en forma de sus sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico. El término "sales" se refiere a sales orgánicas e inorgánicas de un compuesto de la presente invención. Estas sales se pueden preparar *in situ* durante el aislamiento y la purificación finales de un compuesto, o al tratar por separado el compuesto con un ácido orgánico o inorgánico adecuado y aislar la sal allí formada.

Las sales comprendidas por la expresión "sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico" se refieren a los compuestos de la presente invención que, en general, se preparan haciendo reaccionar la base libre con un ácido orgánico o inorgánico adecuado para proporcionar una sal del compuesto de la invención que es adecuada para administrar a un paciente. Las sales de adición ácida adecuadas se forman de ácidos que forman sales no tóxicas. Los ejemplos incluyen las sales de

acetato, adipato, aspartato, benzoato, besilato, bicarbonato/carbonato, bisulfato/sulfato, borato, camsilato, citrato, ciclamato, edisilato, esilato, formiato, fumarato, gluceptato, gluconato, glucuronato, hexafluorofosfato, hibenzoato, clorhidrato/cloruro, bromhidrato/bromuro, yodhidrato/yoduro, isetionato, lactato, malato, maleato, malonato, mesilato, metilsulfato, naftilato, 2-napsilato, nicotinato, nitrato, orotato, oxalato, palmitato, pamoato, fosfato/fosfato de hidrógeno/fosfato de dihidrógeno, piroglutamato, sacarato, estearato, succinato, tanato, tartrato, tosilato, trifluoroacetato y xinofoato. Ver, por ejemplo, Berge, et al. J. Pharm. Sci. 66, 1-19 (1977); Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use, de Stahl y Wermuth (Wiley-VCH, 2002).

Los compuestos de la Fórmula (I) o (II), y sales de estos aceptables desde el punto de vista farmacéutico, pueden existir en formas no solvatadas y solvatadas. El término "solvato" se usa en la presente para describir un complejo molecular que comprende el compuesto de la Fórmula (I) o (II), o una sal de este aceptable desde el punto de vista farmacéutico, y una o más moléculas de solvente aceptables desde el punto de vista farmacéutico, por ejemplo, etanol. El término "hidrato" se usa cuando el solvente es agua.

Un sistema de clasificación de hidratos orgánicos aceptado en la actualidad es aquel que define hidratos de sitios aislados, de canales o coordinados por iones metálicos; ver *Polymorphism in Pharmaceutical Solids* de K. R. Morris (Ed. H. G. Brittain, Marcel Dekker, 1995). Los hidratos de sitios aislados son aquellos en los que las moléculas de agua se aíslan del contacto directo entre sí mediante moléculas orgánicas intervinientes. En los hidratos de canales, las moléculas de agua están en canales de red en donde están junto a otras moléculas de agua. En los hidratos coordinados por iones metálicos, las moléculas de agua se unen al ion de metal.

Cuando el solvente o el agua se unen firmemente, el complejo puede tener una estequiometría bien definida que es independiente de la humedad. Sin embargo, cuando el solvente o el agua se unen débilmente, como en solvatos de canales y compuestos higroscópicos, el contenido de agua/solvente puede depender de la humedad y de las condiciones de secado. En esos casos, lo habitual es la ausencia de estequiometría.

También se incluyen dentro del alcance de la invención los complejos de múltiples componentes (distintos de sales y solvatos) en donde el fármaco y al menos un componente distinto están presentes en cantidades estequiométricas o no estequiométricas. Los complejos de este tipo incluyen clatratos (complejos de inclusión de fármaco- huésped) y cocristales. Los últimos se definen, en general, como complejos cristalinos de elementos constitutivos moleculares neutros que se unen mediante

interacciones no covalentes, pero estos también podrían ser un complejo de una molécula neutra con una sal. Los cocristales se pueden preparar mediante cristalización por fundido, mediante recristalización de solventes o molienda física de los componentes juntos - ver Chem Commun, 17, 1889-1896, de O. Almarsson y M. J. Zaworotko (2004). Para una reseña general de complejos con múltiples componentes, ver J Pharm Sci, 64 (8), 1269-1288, de Haleblan (agosto de 1975).

Los compuestos de la invención incluyen compuestos de la Fórmula (I) o (II), como se definió anteriormente, polimorfos e isómeros de estos (que incluyen isómeros ópticos, geométricos y tautoméricos), como se definen a continuación, y compuestos etiquetados de manera isotópica de la Fórmula (I) o (II).

Los compuestos de la presente invención se pueden administrar como profármacos. Por lo tanto, ciertos derivados de los compuestos de la Fórmula (I) o (II), que pueden tener poca o ninguna actividad farmacológica, se pueden convertir, cuando se los administra en el cuerpo, en compuestos de la Fórmula (I) o (II) que tienen la actividad deseada, por ejemplo, mediante escisión hidrolítica. Esos derivados se denominan "profármacos". [Se puede obtener más información sobre el uso de profármacos en 'Pro-drugs as Novel Delivery Systems, Vol. 14, ACS Symposium Series (T Higuchi and W Stella) y 'Bioreversible Carriers in Drug Design', Pergamon Press, 1987 (ed. E. B. Roche, American Pharmaceutical Association)].

Los profármacos se pueden obtener, por ejemplo, reemplazando las funcionalidades adecuadas presentes en los compuestos de la Fórmula (I) o (II) con ciertas porciones conocidas por las personas del oficio de nivel medio como "proporciones", como se describe, por ejemplo, en "Design of Prodrugs" de H. Bundgaard (Elsevier, 1985).

Algunos ejemplos de estos profármacos incluyen:

(i) en donde el compuesto de la Fórmula (I) o (II) contiene una funcionalidad de alcohol (-OH), un éter de este, por ejemplo, el reemplazo de hidrógeno con (C₁-C₆)alcanoiloximetilo; o un éster de fosfato (PO₃H₂) o sales de este aceptables desde el punto de vista farmacéutico; y

(ii) una amida o carbamato de la funcionalidad amino presente en la Fórmula (I) o (II), en donde el hidrógeno del grupo NH amino se reemplaza con (C₁-C₁₀)alcanoilo o (C₁-C₁₀)alcoxycarbonilo, respectivamente.

Dentro del alcance de la invención también se incluyen metabolitos activos de los compuestos de la Fórmula (I) o (II) (que incluyen profármacos), es decir, compuestos que se forman *in vivo* tras la administración del fármaco, a menudo mediante oxidación

o desalquilación. Algunos ejemplos de metabolitos de acuerdo con la invención incluyen:

- (i) en donde el compuesto de la Fórmula (I) o (II) contiene un grupo metilo, un derivado de hidroximetilo de este ($-\text{CH}_3 \rightarrow -\text{CH}_2\text{OH}$) y
- (ii) en donde el compuesto de la Fórmula (I) o (II) contiene un grupo alcoxi, un derivado de hidroxilo de este ($-\text{OR} \rightarrow -\text{OH}$).

Determinados compuestos de la presente invención pueden existir en más de una forma de cristal (por lo general, se denominan “polimorfos”). Los polimorfos se pueden preparar mediante cristalización en distintas condiciones, por ejemplo, usando diferentes solventes o diferentes mezclas de solventes para la recristalización; cristalización a diferentes temperaturas; y/o diversos modos de enfriamiento, que varían de enfriamiento muy rápido a muy lento durante la cristalización. Los polimorfos también se pueden obtener calentando o fundiendo el compuesto de la presente invención y luego enfriándolo de manera gradual o rápida. La presencia de polimorfos se puede determinar mediante espectroscopía de RMN con sonda sólida, espectroscopía IR, calorimetría de barrido diferencial, difracción de rayos X de polvo u otras técnicas similares.

En general, los compuestos de la presente invención se pueden obtener mediante procesos que incluyen procesos análogos a los que se conocen en el campo de la química, en particular, en función de la descripción de la presente. Se proporcionan determinados procesos para la elaboración de los compuestos de la presente invención como características adicionales de la invención y se ilustran mediante los siguientes esquemas de reacción. Otros procesos pueden estar descritos en la sección experimental. Se describen más adelante esquemas sintéticos específicos para la preparación de los compuestos de la Fórmula (I) o (II). Cabe destacar que los tetrazoles son por lo general un grupo funcional de alta energía y se deben tomar precauciones en la síntesis y el manejo de moléculas que contienen tetrazol.

Cabe mencionar que en la preparación de los compuestos de la Fórmula (I) o (II) se observa que algunos de los métodos de preparación útiles para preparar los compuestos descritos en la presente pueden requerir protección de funcionalidad remota (por ejemplo, amina primaria, amina secundaria, carboxilo en los precursores de la Fórmula (I) o (II)). La necesidad de esta protección variará según la naturaleza de la funcionalidad remota y las condiciones de los métodos de preparación. Una persona del oficio de nivel medio puede determinar fácilmente la necesidad de dicha protección. El uso de esos métodos de protección/desprotección también se encuentra dentro del ámbito de las personas del oficio de nivel medio. Para obtener una descripción general

de grupos protectores y su uso, ver T.W. Greene, Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley & Sons, Nueva York, 1991.

Por ejemplo, determinados compuestos contienen funcionalidades de aminas primarias o ácido carboxílico que pueden interferir con reacciones en otros sitios de la molécula si se dejan desprotegidas. En consecuencia, esas funcionalidades se pueden proteger mediante un grupo protector adecuado que se puede retirar en una etapa posterior. Los grupos protectores adecuados para la protección de amina y ácido carboxílico incluyen aquellos grupos protectores usados comúnmente en síntesis de péptidos (tales como *N*-*ter*-butoxicarbonilo, benciloxycarbonilo y 9-fluorenilmetilenoxy-carbonilo para aminas y ésteres de alquilo o bencilo inferiores para ácidos carboxílicos), que, en general, no son reactivos químicamente en las condiciones de reacción descritas y pueden, en general, retirarse sin alterar químicamente otra funcionalidad en el compuesto de la Fórmula (I) o (II).

Los compuestos de la presente invención se pueden sintetizar mediante vías de síntesis que incluyen procesos análogos a aquellos conocidos en el campo técnico de la química, en particular, en vista de la descripción contenida en la presente. Los materiales de inicio están generalmente disponibles de fuentes comerciales tales como MilliporeSigma (Milwaukee, WI) o se preparan fácilmente usando métodos conocidos por las personas del oficio de nivel medio (por ejemplo, preparados mediante métodos descritos, en general, en Louis F. Fieser y Mary Fieser, Reagents for Organic Synthesis, v. 1-19, Wiley, Nueva York (1967-1999 ed.), o Beilsteins Handbuch der organischen Chemie, 4, Aufl. ed. Springer-Verlag, Berlín, que incluyen suplementos (también disponible en la base de datos de Beilstein en línea)). Varios de los compuestos que se usan en la presente se refieren o derivan de compuestos en los que hay un gran interés científico y necesidad comercial y, en consecuencia, varios de esos compuestos están disponibles en el comercio o se informan en la literatura o se preparan fácilmente a partir de otras sustancias disponibles mediante métodos que se informan en la literatura.

Más adelante, en la sección de ejemplos se proporciona una descripción detallada de las etapas de reacción individuales. Las personas del oficio de nivel medio entenderán que se pueden usar otras vías de síntesis para sintetizar los compuestos. Aunque los materiales de inicio y reactivos específicos se analizan más adelante, otros materiales de inicio y reactivos se pueden sustituir fácilmente para proporcionar una variedad de derivados y/o condiciones de reacción. Asimismo, muchos de los compuestos preparados mediante los métodos descritos más adelante también se

pueden modificar en vista de la presente divulgación usando procedimientos químicos convencionales conocidos por las personas del oficio de nivel medio.

AGENTES DE COMBINACIÓN

Los compuestos de la presente invención se pueden administrar solos o en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales. Las expresiones "administrado en combinación" o "tratamiento conjunto" se refieren a que un compuesto de la presente invención y uno o más agentes terapéuticos adicionales se administran en forma concurrente al mamífero que recibe tratamiento. Cuando se administra en combinación, cada componente se puede administrar al mismo tiempo o de manera secuencial en cualquier orden en diferentes momentos. De este modo, cada componente se puede administrar por separado, pero lo suficientemente cerca en el tiempo para proporcionar el efecto terapéutico deseado. Las expresiones "administración concurrente", "coadministración", "administración simultánea" y "administrado simultáneamente" significan que los compuestos se administran en combinación. Por ello, los métodos de prevención y tratamiento descritos en la presente incluyen el uso de agentes de combinación.

Los agentes de combinación se administran a un mamífero en una cantidad terapéuticamente eficaz. La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a una cantidad de un compuesto de la presente invención que, cuando se administra solo o en combinación con un agente terapéutico adicional a un mamífero, es eficaz para tratar la enfermedad/afección deseadas (por ejemplo, NASH, insuficiencia cardíaca o diabetes).

Dada la actividad de NASH/NAFLD de los compuestos de la presente invención, se pueden coadministrar con otros agentes para el tratamiento de la esteatohepatitis no alcohólica (NASH) y/o hepatopatía grasa no alcohólica (NAFLD) y enfermedades/afecciones asociadas, tales como orlistat, TZD y otros agentes de sensibilidad a la insulina, análogos de FGF21, metformina, etilésteres del ácido Omega-3 (por ejemplo, Lovaza), fibratos, inhibidores de HMG-CoA reductasa, ezetimibe, probucol, ácido ursodeoxicólico, agonistas de TGR5, agonistas de FXR, vitamina E, betaína, pentoxifilina, antagonistas de CB1, carnitina, *N*-acetilcisteína, glutatión reducido, lorcaserin, la combinación de naltrexona con bupropión, inhibidores de SGLT2 (que incluyen dapagliflozin, canagliflozin, empagliflozin, tofogliflozin, ertugliflozin, ASP-1941, THR1474, TS-071, ISIS388626 y LX4211 así como aquellos en WO2010023594), fentermina, topiramato, agonistas del receptor de GLP-1, agonistas del receptor de GIP, agonistas duales de receptor de GLP-1/receptor de glucagón (por ejemplo, OPK88003,

MEDI0382, JNJ-64565111, NN9277, BI 456906), agonistas duales de receptor de GLP-1/receptor de GIP (por ejemplo, tirzepatida (LY3298176), NN9423), bloqueadores del receptor de angiotensina, un inhibidor de acetil-CoA carboxilasa (ACC), un inhibidor de BCKDK, un inhibidor de cetohexokinasa (KHK), inhibidores de ASK1, inhibidores de deshidrogenasa quinasa de alfa-cetoácidos de cadena ramificada (inhibidores de BCKDK), inhibidores de CCR2 y/o CCR5, inhibidores de PNPLA3, inhibidores de DGAT1, un análogo de FGF21, análogos de FGF19, agonistas de PPAR, agonistas de FXR, activadores de AMPK (por ejemplo, ETC-1002 (ácido bempedoico)), inhibidores de SCD1 o inhibidores de MPO.

Los ejemplos de agonistas del receptor de GLP-1 incluyen liraglutida, albiglutida, exenatida, albiglutida, lixisenatida, dulaglutida, semaglutida, HM15211, LY3298176, Medi-0382, NN-9924, TTP-054, TTP-273, efpeglenatida, aquellos descritos en WO2018109607, aquellos descritos en PCT/IB2019/054867 presentada el 11 de junio de 2019, y aquellos descritos en PCT/IB2019/054961 presentada el 13 de junio de 2019, que incluyen los siguientes:

ácido 2-({4-[2-(4-cloro-2-fluorofenil)-1,3-benzodioxol-4-il]piperidin-1-il}metil)-1-[(2S)-oxetan-2-ilmetil]-1*H*-bencimidazol-6-carboxílico;

ácido 2-({4-[2-(4-cloro-2-fluorofenil)-1,3-benzodioxol-4-il]piperidin-1-il}metil)-7-fluoro-1-[(2S)-oxetan-2-ilmetil]-1*H*-bencimidazol-6-carboxílico;

ácido 2-({4-[(2S)-2-(4-cloro-2-fluorofenil)-1,3-benzodioxol-4-il]piperidin-1-il}metil)-1-[(2S)-oxetan-2-ilmetil]-1*H*-bencimidazol-6-carboxílico;

ácido 2-({4-[(2S)-2-(4-cloro-2-fluorofenil)-1,3-benzodioxol-4-il]piperidin-1-il}metil)-7-fluoro-1-[(2S)-oxetan-2-ilmetil]-1*H*-bencimidazol-6-carboxílico;

ácido 2-({4-[2-(4-cloro-2-fluorofenil)-2-metil-1,3-benzodioxol-4-il]piperidin-1-il}metil)-1-[(2S)-oxetan-2-ilmetil]-1*H*-bencimidazol-6-carboxílico;

ácido 2-({4-[2-(4-ciano-2-fluorofenil)-2-metil-1,3-benzodioxol-4-il]piperidin-1-il}metil)-1-[(2S)-oxetan-2-ilmetil]-1*H*-bencimidazol-6-carboxílico;

ácido 2-({4-[2-(5-cloropiridin-2-il)-2-metil-1,3-benzodioxol-4-il]piperidin-1-il}metil)-1-[(2S)-oxetan-2-ilmetil]-1*H*-bencimidazol-6-carboxílico;

ácido 2-({4-[2-(4-cloro-2-fluorofenil)-2-metil-1,3-benzodioxol-4-il]piperidin-1-il}metil)-3-(1,3-oxazol-2-ilmetil)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-5-carboxílico;

ácido 2-({4-[2-(4-cloro-2-fluorofenil)-2-metil-1,3-benzodioxol-4-il]piperidin-1-il}metil)-1-[(1-etil-1*H*-imidazol-5-il)metil]-1*H*-bencimidazol-6-carboxílico;

ácido 2-({4-[2-(4-cloro-2-fluorofenil)-2-metil-1,3-benzodioxol-4-il]piperidin-1-il}metil)-1-(1,3-oxazol-4-ilmetil)-1*H*-bencimidazol-6-carboxílico;

ácido 2-({4-[2-(4-cloro-2-fluorofenil)-2-metil-1,3-benzodioxol-4-il]piperidin-1-il}metil)-1-(piridin-3-ilmetil)-1*H*-bencimidazol-6-carboxílico;

ácido 2-({4-[2-(4-cloro-2-fluorofenil)-2-metil-1,3-benzodioxol-4-il]piperidin-1-il}metil)-1-(1,3-oxazol-5-ilmetil)-1*H*-bencimidazol-6-carboxílico;

ácido 2-({4-[2-(4-cloro-2-fluorofenil)-2-metil-1,3-benzodioxol-4-il]piperidin-1-il}metil)-1-[(1-etil-1*H*-1,2,3-triazol-5-il)metil]-1*H*-bencimidazol-6-carboxílico;

ácido 2-({4-[2-(4-cloro-2-fluorofenil)-2-metil-1,3-benzodioxol-4-il]piperidin-1-il}metil)-1-(1,3-oxazol-2-ilmetil)-1*H*-bencimidazol-6-carboxílico;

ácido 2-({4-[2-(4-cloro-2-fluorofenil)-7-fluoro-2-metil-1,3-benzodioxol-4-il]piperidin-1-il}metil)-1-[(2*S*)-oxetan-2-ilmetil]-1*H*-bencimidazol-6-carboxílico;

ácido 2-({4-[2-(4-ciano-2-fluorofenil)-2-metil-1,3-benzodioxol-4-il]piperidin-1-il}metil)-1-(1,3-oxazol-2-ilmetil)-1*H*-bencimidazol-6-carboxílico;

ácido 2-({4-[(2*S*)-2-(4-cloro-2-fluorofenil)-2-metil-1,3-benzodioxol-4-il]piperidin-1-il}metil)-7-fluoro-1-[(2*S*)-oxetan-2-ilmetil]-1*H*-bencimidazol-6-carboxílico;

ácido 2-({4-[(2*S*)-2-(4-cloro-2-fluorofenil)-2-metil-1,3-benzodioxol-4-il]piperidin-1-il}metil)-1-[(2*S*)-oxetan-2-ilmetil]-1*H*-bencimidazol-6-carboxílico;

ácido 2-({4-[(2*S*)-2-(4-cloro-2-fluorofenil)-2-metil-1,3-benzodioxol-4-il]piperidin-1-il}metil)-7-fluoro-1-[(2*S*)-oxetan-2-ilmetil]-1*H*-bencimidazol-6-carboxílico;

ácido 2-({4-[(2*S*)-2-(4-ciano-2-fluorofenil)-2-metil-1,3-benzodioxol-4-il]piperidin-1-il}metil)-1-[(2*S*)-oxetan-2-ilmetil]-1*H*-bencimidazol-6-carboxílico;

ácido 2-({4-[(2*S*)-2-(5-cloropiridin-2-il)-2-metil-1,3-benzodioxol-4-il]piperidin-1-il}metil)-1-[(2*S*)-oxetan-2-ilmetil]-1*H*-bencimidazol-6-carboxílico;

ácido 2-({4-[(2*S*)-2-(4-cloro-2-fluorofenil)-2-metil-1,3-benzodioxol-4-il]piperidin-1-il}metil)-1-[(1-etil-1*H*-imidazol-5-il)metil]-1*H*-bencimidazol-6-carboxílico;

ácido 2-({4-[(2*R*)-2-(4-cloro-2-fluorofenil)-2-metil-1,3-benzodioxol-4-il]piperidin-1-il}metil)-1-[(1-etil-1*H*-imidazol-5-il)metil]-1*H*-bencimidazol-6-carboxílico;

ácido 2-({4-[2-(5-cloropiridin-2-il)-2-metil-1,3-benzodioxol-4-il]piperidin-1-il}metil)-1-[(2*S*)-oxetan-2-ilmetil]-1*H*-bencimidazol-6-carboxílico;

ácido 2-({4-[(2*S*)-2-(5-cloropiridin-2-il)-2-metil-1,3-benzodioxol-4-il]piperidin-1-il}metil)-1-[(2*S*)-oxetan-2-ilmetil]-1*H*-bencimidazol-6-carboxílico;

ácido 2-({4-[(2*R*)-2-(5-cloropiridin-2-il)-2-metil-1,3-benzodioxol-4-il]piperidin-1-il}metil)-1-[(2*S*)-oxetan-2-ilmetil]-1*H*-bencimidazol-6-carboxílico;

ácido 2-({4-[2-(5-cloropiridin-2-il)-2-metil-1,3-benzodioxol-4-il]piperidin-1-il}metil)-1-[(2*S*)-oxetan-2-ilmetil]-1*H*-bencimidazol-6-carboxílico, DIAST-X2;

ácido 2-[4-{2-[(4-cloro-2-fluorobencil)oxi]piridin-3-il}piperidin-1-il]metil]-1-[(2*S*)-

oxetan-2-ilmetil]-1*H*-bencimidazol-6-carboxílico;

ácido 2-[(4-{2-[(4-cloro-2-fluorobencil)oxi]piridin-3-il}piperidin-1-il)metil]-1-(1,3-oxazol-2-ilmetil)-1*H*-bencimidazol-6-carboxílico;

ácido 2-[(4-{2-[(4-ciano-2-fluorobencil)oxi]piridin-3-il}piperidin-1-il)metil]-1-(1,3-oxazol-2-ilmetil)-1*H*-bencimidazol-6-carboxílico;

ácido 2-[(4-{2-[(4-ciano-2-fluorobencil)oxi]piridin-3-il}piperidin-1-il)metil]-1-[(2*S*)-oxetan-2-ilmetil]-1*H*-bencimidazol-6-carboxílico;

ácido 2-[(4-{3-[(4-cloro-2-fluorobencil)oxi]pirazin-2-il}piperidin-1-il)metil]-1-[(2*S*)-oxetan-2-ilmetil]-1*H*-bencimidazol-6-carboxílico;

ácido 2-(6-{6-[(4-ciano-2-fluorobencil)oxi]piridin-2-il}-6-azaespiro[2.5]oct-1-il)-1-[(2*S*)-oxetan-2-ilmetil]-1*H*-bencimidazol-6-carboxílico;

ácido 2-(6-{2-[(4-cloro-2-fluorobencil)oxi]-5-fluoropirimidin-4-il}-6-azaespiro[2.5]oct-1-il)-1-[(2*S*)-oxetan-2-ilmetil]-1*H*-bencimidazol-6-carboxílico;

ácido 2-(6-{2-[(4-cloro-2-fluorobencil)oxi]-5-fluoropirimidin-4-il}-6-azaespiro[2.5]oct-1-il)-1-(1,3-oxazol-2-ilmetil)-1*H*-bencimidazol-6-carboxílico;

ácido 2-(6-{6-[(4-ciano-2-fluorobencil)oxi]-5-fluoropiridin-2-il}-6-azaespiro[2.5]oct-1-il)-1-[(2*S*)-oxetan-2-ilmetil]-1*H*-bencimidazol-6-carboxílico;

ácido 2-(6-{6-[(4-ciano-2-fluorobencil)oxi]-3-fluoropiridin-2-il}-6-azaespiro[2.5]oct-1-il)-1-[(2*S*)-oxetan-2-ilmetil]-1*H*-bencimidazol-6-carboxílico;

ácido 2-[(4-{2-[(4-cloro-2-fluorobencil)oxi]pirimidin-4-il}piperidin-1-il)metil]-1-[(2*S*)-oxetan-2-ilmetil]-1*H*-bencimidazol-6-carboxílico;

ácido 2-[(2*S*)-4-{2-[(4-cloro-2-fluorobencil)oxi]-5-fluoropirimidin-4-il}-2-metilpiperazin-1-il]metil]-1-[(2*S*)-oxetan-2-ilmetil]-1*H*-bencimidazol-6-carboxílico;

ácido 2-[(2*S*)-4-{2-[(4-cloro-2-fluorobencil)oxi]pirimidin-4-il}-2-metilpiperazin-1-il]metil]-1-[(2*S*)-oxetan-2-ilmetil]-1*H*-bencimidazol-6-carboxílico; y

ácido 2-[(4-{6-[(4-ciano-2-fluorobencil)oxi]piridin-2-il}piperidin-1-il)metil]-1-[(2*S*)-oxetan-2-ilmetil]-1*H*-bencimidazol-6-carboxílico, y sales de estos aceptables desde el punto de vista farmacéutico.

Los inhibidores de ACC de ejemplo incluyen ácido 4-(4-[(1-isopropil-7-oxo-1,4,6,7-tetrahydro-1'*H*-espiro[indazol-5,4'-piperidin]-1'-il)carbonil]-6-metoxipiridin-2-il)benzoico; gemcabeno, y firsocostat (GS-0976) y sales de estos aceptables desde el punto de vista farmacéutico.

Los ejemplos de agonistas de FXR incluyen tropifexor (ácido 2-[(1*R*,3*R*,5*S*)-3-({5-ciclopropil-3-[2-(trifluorometoxi)fenil]-1,2-oxazol-4-il}metoxi)-8-azabicyclo[3.2.1]octan-8-il]-4-fluoro-1,3-benzotiazol-6-carboxílico), cilofexor (GS-9674),

ácido obeticólico, LY2562175, Met409, TERN-101, y EDP-305 y sales de estos aceptables desde el punto de vista farmacéutico.

Los ejemplos de inhibidores de KHK incluyen ácido [(1*R*,5*S*,6*R*)-3-{2-[(2*S*)-2-metilazetidin-1-il]-6-(trifluorometil)pirimidin-4-il}-3-azabicyclo[3.1.0]hex-6-il]acético y sales de este aceptables desde el punto de vista farmacéutico.

Los inhibidores de BCKDK de ejemplo incluyen aquellos descritos en N.º de acta estadounidense 62/868.057 presentada el 28 de junio de 2019 y N.º de acta estadounidense 62/868.542 presentada el 28 de junio de 2019, que incluyen los siguientes:

5-(5-cloro-4-fluoro 3-metiltiofen-2-il)-1*H*-tetrazol;
5-(5-cloro-3-difluorometiltiofen-2-il)-1*H*-tetrazol;
5-(5-fluoro-3-metiltiofen-2-il)-1*H*-tetrazol;
5-(5-cloro-3-metiltiofen-2-il)-1*H*-tetrazol;
5-(3,5-diclorotiofen-2-il)-1*H*-tetrazol;
5-(4-bromo-3-metiltiofen-2-il)-1*H*-tetrazol;
5-(4-bromo-3-etiltiofen-2-il)-1*H*-tetrazol;
5-(4-cloro-3-etiltiofen-2-il)-1*H*-tetrazol;
ácido 3-cloro-5-fluorotieno[3,2-*b*]tiofen-2-carboxílico;
ácido 3-bromo-5-fluorotieno[3,2-*b*]tiofen-2-carboxílico;
ácido 3-(difluorometil)-5-fluorotieno[3,2-*b*]tiofen-2-carboxílico;
ácido 5,6-difluorotieno[3,2-*b*]tiofen-2-carboxílico; y
ácido 3,5-difluorotieno[3,2-*b*]tiofen-2-carboxílico;
o una sal de estos aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

Dada la actividad antidiabética de los compuestos de la presente invención, se pueden coadministrar con otros agentes antidiabéticos. Los agentes antidiabéticos adecuados incluyen insulina, metformina, agonistas del receptor de GLP-1 (descritos anteriormente en la presente), un inhibidor de acetil-CoA carboxilasa (ACC) (descrito anteriormente en la presente), inhibidores de SGLT2 (descritos anteriormente en la presente), inhibidores de monoacilglicerol O-aciltransferasa, inhibidores de fosfodiesterasa (PDE)-10, activadores de AMPK (por ejemplo, ETC-1002 (ácido bempedoico)), sulfonilureas (por ejemplo, acetohexamida, clorpropamida, diabinese, glibenclamida, glipizida, gliburida, glimepirida, gliclazida, glipentida, gliquidona, glisolamida, tolazamida y tolbutamida), meglitinidas, inhibidores de α -amilasa (por ejemplo, tendamistat, trestatina y AL-3688), un inhibidor de α -glucósido hidrolasa (por ejemplo, acarbosa), inhibidores de α -glucosidasa (por ejemplo, adiposina, camiglibosa,

emiglitato, miglitol, voglibosa, pradimicina-Q, y salbostatina), agonistas de PPAR γ (por ejemplo, balaglitazona, ciglitazona, darglitazona, englitazona, isaglitazona, pioglitazona y rosiglitazona), agonistas de PPAR α/γ (por ejemplo, CLX-0940, GW-1536, GW-1929, GW-2433, KRP-297, L-796449, LR-90, MK-0767 y SB-219994), inhibidores de proteína tirosina fosfatasa-1B (PTP-1B) (por ejemplo, trodusquemina, extracto de hirtiosal y compuestos divulgados en Zhang, S., et al., Drug Discovery Today, 12(9/10), 373-381 (2007)), activadores de SIRT-1 (por ejemplo, resveratrol, GSK2245840 o GSK184072), inhibidores de dipeptidil peptidasa IV (DPP-IV) (por ejemplo, los descritos en WO2005116014, sitagliptina, vildagliptina, alogliptina, dutogliptina, linagliptina y saxagliptina), secretagogos de la insulina, inhibidores de la oxidación de los ácidos grasos, antagonistas de A₂, inhibidores de la amino-terminal quinasa c-jun (JNK), activadores de glucoquinasa (GKa) tales como los descritos en WO2010103437, WO2010103438, WO2010013161, WO2007122482, TTP-399, TTP-355, TTP-547, AZD1656, ARRY403, MK-0599, TAK-329, AZD5658 o GKM-001, insulina, miméticos de la insulina, inhibidores de glucógeno fosforilasa (por ejemplo, GSK1362885), agonistas del receptor de VPAC₂, moduladores del receptor de glucagón tales como los descritos en Demong, D.E. et al. Annual Reports in Medicinal Chemistry 2008, 43, 119-137, moduladores de GPR119, en particular, agonistas, tales como los descritos en WO2010140092, WO2010128425, WO2010128414, WO2010106457, Jones, R.M. et al. en Medicinal Chemistry 2009, 44, 149-170 (por ejemplo, MBX-2982, GSK1292263, APD597 y PSN821), derivados o análogos de FGF21, tales como los descritos en Kharitonov, A. et al. et al., Current Opinion in Investigational Drugs 2009, 10(4)359-364, moduladores del receptor de TGR5 (también denominado GPBAR1), en particular, agonistas, tales como los descritos en Zhong, M., Current Topics in Medicinal Chemistry, 2010, 10(4), 386-396 e INT777, agonistas de GPR40, tales como los descritos en Medina, J.C., Annual Reports in Medicinal Chemistry, 2008, 43, 75-85, que incluyen, entre otros, TAK-875, moduladores de GPR120, en particular, agonistas, activadores del receptor de ácido nicotínico de alta afinidad (HM74A) e inhibidores de SGLT1, tales como GSK1614235. Otra lista representativa de agentes antidiabéticos que se pueden combinar con los compuestos de la presente invención se puede hallar, por ejemplo, desde la página 28, línea 35 hasta la página 30, línea 19 de WO2011005611.

Otros agentes antidiabéticos podrían incluir inhibidores o moduladores de las enzimas carnitina palmitoil transferasa, inhibidores de fructosa 1,6-difosfatasa, inhibidores de aldosa reductasa, inhibidores del receptor de mineralocorticoide, inhibidores de TORC2, inhibidores de CCR2 y/o CCR5, inhibidores de las isoformas de

PKC (por ejemplo, PKC α , PKC β , PKC γ), inhibidores de sintetasa de ácidos grasos, inhibidores de serina palmitoil transferasa, moduladores de GPR81, GPR39, GPR43, GPR41, GPR105, Kv1.3, proteína de unión al retinol 4, receptor de glucocorticoide, receptores de somatostatina (por ejemplo, SSTR1, SSTR2, SSTR3 y SSTR5), inhibidores o moduladores de PDHK2 o PDHK4, inhibidores de MAP4K4, moduladores de la familia de IL1, incluso IL1beta, y moduladores de RXR α . Además, los agentes antidiabéticos adecuados incluyen los mecanismos enumerados en Carpino, P.A., Goodwin, B. Expert Opin. Ther. Pat, 2010, 20(12), 1627-51.

Los compuestos de la presente invención se pueden coadministrar con agentes contra la insuficiencia cardíaca, tales como inhibidores de ACE (por ejemplo, captopril, enalapril, fosinopril, lisinopril, perindopril, quinapril, ramipril,trandolapril), bloqueadores del receptor de angiotensina II (por ejemplo, candesartán, losartán, valsartán), receptor de angiotensina/inhibidores de neprilisina (sacubitril/valsartán), bloqueador de canal I $_f$ ivabradina, agentes bloqueadores beta-adrenérgicos (por ejemplo, bisoprolol, succinato de metoprolol, carvedilol), antagonistas de aldosterona (por ejemplo, espironolactona, eplerenona), hidralazina y dinitrato de isosorbida, diuréticos (por ejemplo, furosemida, bumetanida, torsemida, clorotiazida, amilorida, hidroclorotiazida, indapamida, metolazona, triamtereno), o digoxina.

Los compuestos de la presente invención también se pueden coadministrar con agentes reductores de colesterol o lípido que incluyen los siguientes agentes de ejemplo: Inhibidores de HMG-CoA reductasa (por ejemplo, pravastatina, pitavastatina, lovastatina, atorvastatina, simvastatina, fluvastatina, NK-104 (también conocido como itavastatina, nisvastatina o nisbastatina) y ZD-4522 (también conocido como rosuvastatina, atavastatina o visastatina); inhibidores de escualeno sintetasa; fibratos (por ejemplo, gemfibrozil, pemafibrato, fenofibrato, clofibrato); secuestrantes del ácido biliar (tales como questran, colestipol, colesevelam); inhibidores de ACAT; inhibidores de MTP; inhibidores de lipooxigenasa; inhibidores de la absorción del colesterol (por ejemplo, ezetimibe); agentes ácidos nicotínicos (por ejemplo, niacina, niacor, slo-niacina); ácidos grasos omega-3 (por ejemplo, epanova, aceite de pescado, ácido eicosapentaenoico); inhibidores de la proteína de transferencia de colesteroléster (por ejemplo, obicetrapib) y moduladores de PCSK9 (por ejemplo, alirocumab, evolocumab, bococizumab, ALN-PCS (inclisiran)).

Los compuestos de la presente invención también se pueden usar en combinación con agentes antihipertensivos, y la actividad contra la hipertensión se puede determinar con facilidad por las personas del oficio de nivel medio de acuerdo

con ensayos estándares (por ejemplo, mediciones de presión arterial). Los ejemplos de agentes antihipertensivos adecuados incluyen bloqueadores alfa adrenérgicos; bloqueadores beta adrenérgicos; bloqueadores del canal de calcio (por ejemplo, diltiazem, verapamilo, nifedipina y amlodipina); vasodilatadores (por ejemplo, hidralazina), diuréticos (por ejemplo, clorotiazida, hidroclorotiazida, flumetiazida, hidroflumetiazida, bendroflumetiazida, metilclorotiazida, triclormetiazida, politiazida, benzotiazida, ácido etacrínico, tricinafén, clortalidona, torsemida, furosemida, bumetanida, triamtereno, amilorida, espironolactona); inhibidores de renina; inhibidores de ACE (por ejemplo, captopril, zofenopril, fosinopril, enalapril, ceranopril, cilazopril, delapril, pentopril, quinapril, ramipril, lisinopril); antagonistas del receptor AT-1 (por ejemplo, losartán, irbesartán, valsartán); antagonistas del receptor ET (por ejemplo, sitaxsentán, atrasentán y los compuestos divulgados en las patentes estadounidenses N.^{os} 5.612.359 y 6.043.265); antagonista de ET/AlI dual (por ejemplo, los compuestos divulgados en WO 00/01389); inhibidores de endopeptidasa neutra (NEP); inhibidores de vasopeptidasa (inhibidores de NEP-ACE duales) (por ejemplo, gemopatrilat y nitratos). Un ejemplo de agente antianginoso es ivabradina.

Los ejemplos de bloqueadores del canal de calcio adecuados (tipo L o tipo T) incluyen diltiazem, verapamil, nifedipina, amlodipina y mibefradil.

Los ejemplos de glucósidos cardíacos adecuados incluyen digitalis y ouabaína.

En una forma de realización, un compuesto de la Fórmula (I) o (II) se puede coadministrar con uno o más diuréticos. Los ejemplos de diuréticos adecuados incluyen (a) diuréticos de bucle, tales como furosemida (tal como LASIXTM), torsemida (tal como DEMADTM), bumetanida (tal como BUMEXTM) y ácido etacrínico (tal como EDECRINTM); (b) diuréticos tipo tiazida, tales como clorotiazida (tales como DIURILTM, ESIDRIXTM o HYDRODIURILTM), hidroclorotiazida (tales como MICROZIDETM u ORETICTM), benzotiazida, hidroflumetiazida (tal como SALURONTM), bendroflumetiazida, metilclortiazida, politiazida, triclormetiazida e indapamida (tal como LOZOLTM); (c) diuréticos tipo ftalimidina, tales como clortalidona (tal como HYGROTONTM) y metolazona (tal como ZAROXOLYNTM); (d) diuréticos tipo quinazolina, tales como quinetazona; y (e) diuréticos moderadores de potasio, tales como triamtereno (tal como DYRENIUMTM) y amilorida (tales como MIDAMORTM o MODURETICTM).

En otra forma de realización, un compuesto de la Fórmula (I) o (II) se puede coadministrar con un diurético de bucle. Aun en otra forma de realización, el diurético de bucle se selecciona de furosemida y torsemida. Aun en otra forma de realización, uno o más compuestos de la Fórmula (I) o (II) se pueden coadministrar con furosemida.

Aun en otra forma de realización, uno más compuestos de la Fórmula (I) o (II) se pueden coadministrar con torsemida que, opcionalmente, puede ser una forma de liberación controlada o modificada de torsemida.

En otra forma de realización, un compuesto de la Fórmula (I) o (II) se puede coadministrar con un diurético tipo tiazida. Aun en otra forma de realización, el diurético tipo tiazida se selecciona del grupo que consiste en clorotiazida e hidroclorotiazida. Aun en otra forma de realización, uno o más compuestos de la Fórmula (I) o (II) se pueden coadministrar con clorotiazida. Aun en otra forma de realización, uno o más compuestos de la Fórmula (I) o (II) se pueden coadministrar con hidroclorotiazida.

En otra forma de realización, uno o más compuestos de la Fórmula (I) o (II) se pueden coadministrar con un diurético tipo ftalimidina. Aun en otra forma de realización, el diurético tipo ftalimidina es clortalidona.

Los ejemplos de antagonistas del receptor de mineralocorticoide adecuados incluyen espironolactona y eplerenona.

Los ejemplos de inhibidores de fosfodiesterasa adecuados incluyen: inhibidores de PDE III (tales como cilostazol); e inhibidores de PDE V (tales como sildenafil).

Las personas del oficio de nivel medio reconocerán que los compuestos de la presente invención también se pueden usar junto con otros tratamientos cardiovasculares o cerebrovasculares que incluyen intervención coronaria percutánea (PCI), colocación de *stents* (*stenting*), *stents* eluyentes de fármacos, tratamiento con células madres y dispositivos médicos, tales como implante de marcapasos, desfibriladores o tratamiento de resincronización cardíaca.

En particular, cuando se suministran como una sola unidad de dosis, es posible que se produzca una interacción química entre los ingredientes activos combinados. Por ello, cuando un compuesto de la Fórmula (I) o (II) y un segundo agente terapéutico se combinan en una sola unidad de dosis, estos se formulan de manera que, aunque los ingredientes activos se combinen en una sola unidad de dosis, el contacto físico entre los ingredientes activos se minimiza (es decir, se reduce). Por ejemplo, un ingrediente activo se puede recubrir de manera entérica. Mediante el recubrimiento entérico de uno de los ingredientes activos, no solo es posible minimizar el contacto entre los ingredientes activos combinados, sino también controlar la liberación de uno de estos componentes en el tubo gastrointestinal, de manera que uno de estos componentes no se libere en el estómago, sino en los intestinos. Uno de los ingredientes activos también se puede recubrir con un material que afecte la liberación sostenida a lo largo del tubo gastrointestinal y que, además, minimice el contacto físico entre los ingredientes activos

combinados. Además, el componente de liberación sostenida también se puede recubrir de manera entérica, de manera que la liberación de este componente se produzca en el intestino. Otro enfoque involucraría la formulación de un producto combinado en el que un componente se recubre con un polímero de liberación sostenida y/o entérica, y el otro componente también se recubre con un polímero, tal como hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) de baja viscosidad u otros materiales adecuados conocidos en el estado de la técnica, a fin de separar aún más los componentes activos. El recubrimiento polimérico sirve para formar una barrera adicional contra la interacción con el otro componente.

Estas y otras formas de minimizar el contacto entre los componentes de los productos combinados de la presente invención, ya sea que se administren en una sola forma de dosis o en formas separadas pero al mismo tiempo y de la misma manera, serán evidentes para las personas del oficio de nivel medio después de analizar la presente divulgación.

Para el tratamiento conjunto, tanto los compuestos de esta invención como los otros tratamientos farmacológicos se administran a mamíferos (por ejemplo, seres humanos, hombres o mujeres) por métodos convencionales. Un compuesto de la Fórmula (I) o (II) y las sales de este están adaptados para uso terapéutico como agentes que inhiben las diacilglicerol aciltransferasas 2 en mamíferos, en particular en seres humanos, y por ello, son útiles para el tratamiento de las distintas afecciones (por ejemplo, las descritas en la presente) en las que está involucrada esta acción.

Las enfermedades/afecciones que se pueden tratar de acuerdo con la presente invención incluyen, entre otras, afecciones cardiovasculares, diabetes (por ejemplo, tipo II) y complicaciones diabéticas, afecciones vasculares, NASH (esteatohepatitis no alcohólica), NAFLD (hepatopatía grasa no alcohólica) y enfermedades renales.

Se cree que la inhibición de DGAT2 exhibe efectos beneficiosos en el control glucémico y el perfil de colesterol en plasma de modo que esta diana sea de importancia en el tratamiento de enfermedades metabólicas (Choi, C. S. *et.al.* 2007. *J Biol Chem* **282**: 22678-22688). Dada la correlación positiva entre la inhibición de DGAT2 con enfermedades/afecciones metabólicas y asociadas, un compuesto de la Fórmula (I) o (II), en virtud de la acción farmacológica, es útil para la prevención, interrupción y/o regresión de los estados de enfermedad metabólica y asociada (por ejemplo, diabetes tipo II; NASH; NAFLD).

Los triglicéridos hepáticos (TG) derivan de 3 fuentes principales: lipogénesis *de novo* (DNL), reesterificación de ácidos grasos (FA) suministrados por el tejido adiposo

e ingesta nutricional (Cohen J. C. et al. 2011, *Science*, **332**, 1519-1523). Si bien la mayor contribución al grupo de TG hepáticos parece derivar de productos lipolíticos que se originan en adipocitos, la vía lipogénica cumple una función importante en el desarrollo de NAFLD y la progresión a NASH. La contribución de DNL a la progresión de la enfermedad en NAFLD está respaldada por el análisis de la composición de FA de TG en sujetos con y sin NAFLD. Los datos demuestran un mayor nivel de FA saturados en aquellos sujetos con NAFLD, lo que implica que la vía de DNL contribuye en gran medida a la esteatosis hepática dado que los FA saturados representan el producto principal de DNL. Estos hallazgos son consistentes con la mayor inclusión de TG derivados de DNL en partículas de VLDL en NAFLD en donde 15 % de los TG producidos se originan de DNL en comparación con solo 2 a 5 % en sujetos normales que consumen una dieta de patrón occidental típica (Sanders, F. W. B. y, Griffin J. L., 2016, *Biol. Rev.*, **91**, 452-468). Además, se informó que las tasas elevadas de DNL son una característica distintiva de NAFLD. Los sujetos humanos con grasa hepática elevada mostraron un aumento de más de 3 veces de la tasa de DNL hepática con respecto a sujetos con grasa hepática normal, pero no se detectaron diferencias entre los grupos en el flujo de ácido graso libre (FFA) de adiposidades o en la producción de VLDL de FFA. Como consecuencia, cuando se comparan las fuentes absolutas de FA incorporados en TG de VLDL, la DNL hepática elevada fue la única fuente significativamente elevada en sujetos con grasa hepática elevada (Lambert J. E. y Ramos-Roman, M. A., 2014, *Gastroenterology*, **146**, 726-735).

Las diacilglicerol aciltransferasas (DGAT) catalizan la etapa terminal en la síntesis de TG, específicamente, la esterificación del ácido graso (FA) con diacilglicerol (DAG), lo que da como resultado la formación de TG (Yen, C. L. et al. 2008, *J. Lipid Res.*, **49**, 2283-2301). En mamíferos, se han caracterizado dos enzimas DGAT (DGAT1 y DGAT2) no relacionadas estructuralmente. DGAT1 tiene alta expresión en el intestino y tiene una función central en la absorción de grasa (Buhman, K. K., et al., 2002, *J. Biol. Chem.*, **277**, 25474-25479). DGAT2 tiene alta expresión en hígado y tejidos adiposos (Cases, S., et al., 2001, *J. Biol. Chem.*, **276**, 38870-38876). En modelos preclínicos, el bloqueo de DGAT2 hepática con el uso de oligonucleótidos antisentido da como resultado la regulación descendente de la expresión de múltiples genes que codifican proteínas que participan en la lipogénesis y la inducción paralela en vías oxidativas. La consecuencia directa de estos cambios es una disminución en los niveles de los lípidos TG y DAG hepáticos lo cual, a su vez, reduce la carga lipídica de hepatocitos y disminuye la secreción de TG en lipoproteína de densidad muy baja (VLDL) hepática

(Choi, C. S. *et.al.* 2007. *J Biol Chem* **282**: 22678-22688 y Yu, X. X. *et al.* 2005, *Hepatology*, **42**, 362-371). De este modo, se cree que la inhibición farmacológica de DGAT2 va a exhibir efectos beneficiosos para el tratamiento de NAFLD/NASH y otras enfermedades metabólicas que incluyen control glucémico y colesterol en plasma.

En particular, dada la correlación positiva entre la inhibición de DGAT2 con NASH/NAFLD y enfermedades/afecciones asociadas, un compuesto de la Fórmula (I) o (II), en virtud de la acción farmacológica, es útil para la prevención, interrupción y/o regresión de los estados de NASH/NAFLD y enfermedad asociada.

Además, la autoridad reguladora reconoció que la aprobación condicional de los estudios de fase III en NASH se basa en marcadores sustitutos histológicos obtenidos mediante biopsia hepática. Estos sustitutos generalmente aceptados son i) la resolución de NASH sin empeoramiento de fibrosis (es decir, un aumento numérico en la etapa de fibrosis); ii) una reducción de una o más etapas en fibrosis sin empeoramiento de NASH. Los detalles se pueden encontrar en: Ratziu, A critical review of endpoints for non-cirrhotic NASH therapeutic trials, *Journal of Hepatology*, 2018, 68. 353-361, y las referencias allí citadas.

Además, las autoridades reguladoras buscan un cambio en el puntaje de la actividad de hepatopatía grasa no alcohólica (NAFLD) (NAS) desde el inicio. El puntaje de la actividad de NAFLD (NAS) es un puntaje compuesto igual a la suma del grado de esteatosis (0-3), grado de inflamación lobular (0-3), y grado de balonamiento hepatocelular (0-2), de puntaje patólogo centralizado de biopsias hepáticas. La escala general de NAS es 0-8, en donde puntajes más altos indican una enfermedad más grave. La medición de resultado, cambio desde el inicio en puntaje de la actividad de NAFLD (NAS), tiene un rango posible de -8 a +8, en donde los valores negativos indican un mejor resultado (mejora) y los valores positivos indican un peor resultado. Los componentes de NAS se califican de la siguiente manera: Grado de esteatosis 0=<5 % de esteatosis, 1=5-33 % de esteatosis, 2=34-66 % de esteatosis, 3=>66 % de esteatosis. Grado de inflamación lobular=cantidad de inflamación lobular (combina focos mononucleares, de granulomas grasos, y polimorfonuclear (pmn)): 0=0, 1=<2 con una magnificación de 20x, 2=2-4 con una magnificación de 20x, 3=>4 con una magnificación de 20x. Balonamiento hepatocelular 0=ninguno, 1=leve, 2=más que leve.

Dado que la acción farmacológica de los compuestos de la Fórmula (I) o (II) es útil para tratar hiperlipidemia, diabetes tipo I, diabetes mellitus tipo II, diabetes tipo I idiopática (Tipo Ib), diabetes autoinmunitaria latente en adultos (LADA), diabetes tipo 2 de inicio temprano (EOD), diabetes atípica de inicio en la juventud (YOAD), diabetes

juvenil de inicio en la madurez (MODY), diabetes relacionada con la malnutrición, diabetes gestacional, enfermedad cardíaca coronaria, apoplejía isquémica, reestenosis después de la angioplastia, enfermedad vascular periférica, claudicación intermitente, infarto de miocardio, dislipidemia, lipemia posprandial, afecciones relacionadas con la intolerancia a la glucosa (IGT), afecciones relacionadas con la alteración de la glucosa en plasma en ayunas, acidosis metabólica, cetosis, artritis, obesidad, osteoporosis, hipertensión, insuficiencia cardíaca congestiva, hipertrofia ventricular izquierda, enfermedad arterial periférica, retinopatía diabética, degeneración macular, cataratas, nefropatía diabética, glomeruloesclerosis, insuficiencia renal crónica, neuropatía diabética, síndrome metabólico, síndrome X, síndrome premenstrual, angina de pecho, trombosis, aterosclerosis, accidente isquémico transitorio, apoplejía, reestenosis vascular, hiperglucemia, hiperinsulinemia, hipertrigliceridemia, resistencia a la insulina, alteración del metabolismo de la glucosa, disfunción eréctil, afecciones de la piel y del tejido conectivo, úlceras en el pie y colitis ulcerosa, disfunción endotelial y alteraciones de la distensibilidad vascular, hiper lipoproteinemia apo B, Alzheimer, esquizofrenia, deterioro cognitivo, enfermedad inflamatoria intestinal, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn y síndrome del intestino irritable, esteatohepatitis no alcohólica (NASH) o hepatopatía grasa no alcohólica (NAFLD).

La administración de los compuestos de la presente invención se puede realizar mediante cualquier método que administre un compuesto de la presente invención de manera sistémica y/o local. Estos métodos incluyen vía oral, parenteral, intraduodenal, bucal, intranasal, etc. En general, los compuestos de la presente invención se administran por vía oral, pero puede usarse la administración parenteral (por ejemplo, intravenosa, intramuscular, subcutánea o intramedular), por ejemplo, cuando la administración por vía oral no es adecuada para el objetivo o si el paciente no puede ingerir el fármaco.

Para la administración a pacientes humanos, una dosis diaria oral de los compuestos de la presente puede estar en el rango de 1 mg a 5000 mg, según el modo y la frecuencia de administración, el estadio de la enfermedad, la edad y la condición del paciente, etc. Se puede usar una dosis diaria oral en el rango de 3 mg a 2000 mg. Otra dosis diaria oral se encuentra en el rango de 5 mg a 1000 mg. Por conveniencia, los compuestos de la presente invención se pueden administrar en una forma de dosis unitaria. Si se desea, se pueden usar múltiples dosis diarias de la forma de dosis unitaria para aumentar la dosis diaria total. La forma de dosis unitaria puede ser, por ejemplo, un comprimido o una cápsula que contiene alrededor de 0,1, 0,5, 1, 5, 10, 15, 20, 25,

30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 125, 150, 175, 200, 250, 300, 500 o 1000 mg del compuesto de la presente invención. La dosis diaria total se puede administrar en una sola dosis o en dosis divididas y, según el criterio del médico, se puede administrar fuera del rango típico que se indica en la presente.

Para la administración a pacientes humanos, una dosis diaria de infusión de los compuestos de la presente puede estar en el rango de 1 mg a 2000 mg, según el modo y la frecuencia de administración, el estadio de la enfermedad, la edad y la condición del paciente, etc. Otra dosis diaria de infusión puede estar en el rango de 5 mg a 1000 mg. La dosis diaria total se puede administrar en una sola dosis o en dosis divididas y, según el criterio del médico, se puede administrar fuera del rango típico que se indica en la presente.

De acuerdo con los métodos de tratamiento de la presente invención, un compuesto de la presente invención o una combinación de un compuesto de la presente invención y al menos un agente farmacéutico adicional (en la presente denominado "combinación") se administra a un sujeto que necesita ese tratamiento, preferentemente, en forma de una composición farmacéutica. En el aspecto combinado de la invención, el compuesto de la presente invención y al menos otro agente farmacéutico (por ejemplo, otro agente contra la obesidad) se pueden administrar en forma separada o en una composición farmacéutica que comprenda a ambos. En general, se prefiere que la administración sea por vía oral.

Cuando una combinación de un compuesto de la presente invención y al menos otro agente farmacéutico se administran juntos, la administración puede ser secuencial o simultánea. En general, se prefiere la administración simultánea de combinaciones de fármacos. Para la administración secuencial, un compuesto de la presente invención y el agente farmacéutico adicional se puede administrar en cualquier orden. En general, se prefiere que la administración sea por vía oral. En especial, se prefiere que la administración sea por vía oral y simultánea. Cuando un compuesto de la presente invención y el agente farmacéutico adicional se administran secuencialmente, la administración de cada uno puede ser mediante métodos iguales o diferentes.

De acuerdo con los métodos de la invención, un compuesto de la presente invención o una combinación preferentemente se administra en forma de una composición farmacéutica. En consecuencia, un compuesto de la presente invención o una combinación se puede administrar a un paciente de manera separada o conjunta en cualquier forma de dosis convencional oral, rectal, transdérmica, parenteral (por ejemplo, intravenosa, intramuscular o subcutánea), intracisternal, intravaginal,

intraperitoneal, tópica (por ejemplo, polvo, pomada, crema, atomizador o loción), bucal o nasal (por ejemplo, atomizador, gotas o inhalante).

Los compuestos de la invención o las combinaciones se pueden administrar solos pero, en general, se administrarán en una mezcla con uno o más excipientes farmacéuticos, adyuvantes, diluyentes o portadores adecuados conocidos en el estado de la técnica y se seleccionarán de acuerdo con la vía de administración prevista y la práctica farmacéutica estándar. El compuesto de la invención o la combinación se puede formular para proporcionar formas de dosis de liberación inmediata, retardada, modificada, sostenida, pulsátil o controlada según la vía de administración deseada y la especificidad del perfil de liberación en relación con las necesidades terapéuticas.

La composición farmacéutica comprende un compuesto de la invención o una combinación en una cantidad en general en el rango de alrededor de 1 % a alrededor de 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o incluso 95 % (en peso) de la composición, en general en el rango de alrededor de 1 %, 2 % o 3 % a alrededor de 50 %, 60 % o 70 %, con mayor frecuencia en el rango de alrededor de 1 %, 2 % o 3 % a menos de 50 % tales como alrededor de 25 %, 30 % o 35 %.

Los métodos para preparar varias composiciones farmacéuticas con una cantidad específica de compuesto activo son conocidos por las personas del oficio de nivel medio. Para los ejemplos, ver Remington: The Practice of Pharmacy, Lippincott Williams y Wilkins, Baltimore Md. 20th ed. 2000.

Las composiciones adecuadas para inyección parenteral incluyen, en general, soluciones, dispersiones, suspensiones o emulsiones estériles acuosas o no acuosas aceptables desde el punto de vista farmacéutico, y polvos estériles para reconstitución en soluciones o dispersiones inyectables estériles. Los ejemplos de portadores o diluyentes acuosos o no acuosos adecuados (que incluyen solventes y vehículos) incluyen agua, etanol, polioles (propilenglicol, polietilenglicol, glicerol y similares), mezclas adecuadas de aquellos, triglicéridos que incluyen aceites vegetales, tales como aceite de oliva y ésteres orgánicos inyectables, tales como oleato de etilo. Un portador preferido es éster del ácido caprílico/cáprico de la marca Miglyol.RTM con glicerina o propilenglicol (por ejemplo, Miglyol.RTM. 812, Miglyol.RTM. 829, Miglyol.RTM. 840) disponible de Condea Vista Co., Cranford, N.J. La correcta fluidez se puede mantener, por ejemplo, usando un recubrimiento, tal como lecitina, manteniendo el tamaño de partícula requerido en el caso de dispersiones y usando tensioactivos.

Estas composiciones para inyección parenteral también pueden contener excipientes, tales como agentes conservantes, humectantes, emulgentes y

dispersantes. La prevención de contaminación de microorganismos de las composiciones se puede lograr con diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido sórbico y similares. También puede ser deseable incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, cloruro de sodio y similares. La absorción prolongada de composiciones farmacéuticas inyectables se puede obtener mediante el uso de agentes que pueden demorar la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina.

Las formas de dosis sólidas para administración oral incluyen cápsulas, comprimidos, caramelos masticables, pastillas, píldoras, polvos y preparaciones multiparticuladas (gránulos). En tales formas de dosis sólidas, un compuesto de la presente invención o una combinación se mezcla con al menos un excipiente, diluyente o portador inerte. Los excipientes, diluyentes o portadores adecuados incluyen materiales tales como citrato de sodio o fosfato de dicalcio y/o (a) uno o más agentes de relleno o extensores (por ejemplo, celulosa microcristalina (disponible como Avicel.TM. de FMC Corp.) almidones, lactosa, sacarosa, manitol, ácido silícico, xilitol, sorbitol, dextrosa, hidrogenofosfato de calcio, dextrina, alfa-ciclodextrina, beta-ciclodextrina, polietilenglicol, ácidos grasos de cadena media, óxido de titanio, óxido de magnesio, óxido de aluminio y similares); (b) uno o más aglutinantes (por ejemplo, carboximetilcelulosa, metilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, gelatina, goma arábica, etil celulosa, alcohol de polivinilo, pululano, almidón pregelatinizado, agar, tragacanto, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa, acacia y similares); (c) uno o más humectantes (por ejemplo, glicerol y similares); (d) uno o más agentes desintegrantes (por ejemplo, agar-agar, carbonato de calcio, almidón de papa o tapioca, ácido algínico, algunos silicatos complejos, carbonato de sodio, laurilsulfato de sodio, glicolato de almidón sódico (disponible como Explotab.TM. de Edward Mendell Co.), polivinilpirrolidona reticulada, croscarmelosa de sodio tipo A (disponible como Ac-di-sol.TM.), poliacrilina de potasio (una resina de intercambio iónico) y similares); (e) uno o más retardadores de la solución (por ejemplo, parafina y similares); (f) uno o más aceleradores de la absorción (por ejemplo, compuestos de amonio cuaternario y similares); (g) uno o más agentes humectantes (por ejemplo, alcohol de cetilo, monoestearato de glicerol y similares); (h) uno o más adsorbentes (por ejemplo, caolín, bentonita y similares); y/o (i) uno o más lubricantes (por ejemplo, talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, ácido esteárico, estearato de polioxilo, cetanol, talco, aceite de ricino hidrogenado, sucroésteres de ácidos grasos, dimetilpolisiloxano, cera microcristalina, cera de abejas amarilla, cera de abejas blanca,

polietilenglicoles sólidos, laurilsulfato de sodio y similares). En el caso de las cápsulas y los comprimidos, las formas de dosis también pueden comprender agentes amortiguadores.

Las composiciones sólidas de un tipo similar también se pueden usar como agentes de relleno en cápsulas de gelatina blanda o dura con recubrimiento, usando excipientes como lactosa o azúcar de la leche, polietilenglicoles de alto peso molecular y similares.

Las formas de dosis sólidas, tales como comprimidos, grageas, cápsulas y gránulos se pueden preparar con recubrimientos y cubiertas, tales como recubrimientos entéricos y otros recubrimientos conocidos en el estado de la técnica. Estos también pueden contener agentes de opacidad, y también pueden ser de composición tal que estos liberen el compuesto de la presente invención y/o el agente farmacéutico adicional de una manera retrasada. Algunos ejemplos de composiciones de incrustación que se pueden usar son ceras y sustancias poliméricas. El fármaco también puede presentarse en forma microencapsulada, si correspondiera, con uno o más de los excipientes antes mencionados.

Para los comprimidos, el agente activo comprenderá, en general, menos de 50 % (en peso) de la formulación, por ejemplo, menos de alrededor de 10 %, tal como 5 % o 2,5 % en peso. La porción principal de la formulación comprende agentes de relleno, diluyentes, desintegrantes, lubricantes y, opcionalmente, saborizantes. La composición de estos excipientes es conocida en el estado de la técnica. Frecuentemente, los agentes de relleno/diluyentes comprenderán mezclas de dos o más de los siguientes componentes: celulosa microcristalina, manitol, lactosa (todos los tipos), almidón y fosfato dicálcico. Las mezclas de agentes de relleno/diluyentes comprenden, en general, menos de 98 % de la formulación y, preferentemente, menos de 95 %, por ejemplo, 93,5 %. Los desintegrantes preferidos incluyen Ac-di-sol.TM., Explotab.TM., almidón y laurilsulfato de sodio. Cuando está presente, un desintegrante comprende, en general, menos de 10 % de la formulación o menos de 5 %, por ejemplo, alrededor de 3 %. Un lubricante preferido es estearato de magnesio. Cuando está presente, un lubricante comprende, en general, menos de 5 % de la formulación o menos de 3 %, por ejemplo, alrededor de 1 %.

Los comprimidos se pueden elaborar mediante procesos de formación de comprimidos estándares, por ejemplo, compresión directa o una granulación en húmedo, en seco o por fusión, proceso de congelamiento por fusión, y extrusión. Los núcleos de comprimidos pueden ser de una o múltiples capas y se pueden recubrir con

sobrerrecubrimientos adecuados conocidos en el estado de la técnica.

Las formas de dosis líquidas para la administración oral incluyen emulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires aceptables desde el punto de vista farmacéutico. Además del compuesto de la presente invención o la combinación, la forma de dosis líquida puede contener diluyentes inertes usados habitualmente en el estado de la técnica, tales como agua u otros solventes, agentes solubilizantes y emulsionantes, como por ejemplo, alcohol etílico, alcohol de isopropilo, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol de bencilo, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, dimetilformamida, aceites (por ejemplo, aceite de semillas de algodón, aceite de maní, aceite de germen de maíz, aceite de oliva, aceite de ricino, aceite de semillas de sésamo y similares), Miglyole.RTM. (disponible de CONDEA Vista Co., Cranford, N.J.), glicerol, alcohol de tetrahydrofurfurilo, polietilenglicoles y ésteres de ácidos grasos de sorbitán o mezclas de estas sustancias y similares.

Además de los diluyentes inertes, la composición también puede incluir excipientes, tales como agentes humectantes, emulgentes y agentes de suspensión, endulzantes, saborizantes y perfumantes.

Las formas líquidas orales de los compuestos de la invención o combinaciones incluyen soluciones, en donde el compuesto activo se disuelve por completo. Los ejemplos de solventes incluyen todos los solventes adecuados con precedentes desde el punto de vista farmacéutico para administración oral, en particular aquellos en los que los compuestos de la invención muestran buena solubilidad, por ejemplo, polietilenglicol, polipropilenglicol, aceites comestibles y sistemas a base de glicerilo y glicérido. Los sistemas a base de glicerilo y glicérido pueden incluir, por ejemplo, los productos con marcas registradas (y los correspondientes productos genéricos): Captex.TM. 355 EP (tricaprilato/caprato de glicerilo, de Abitec, Columbus Ohio), Crodamol.TM. GTC/C (triglicérido de cadena mediana, de Croda, Cowick Hall, UK) o Labrafac.TM. CC (triglicéridos de cadena mediana, de Gattefosse), Captex.TM. 500P (triacetato de glicerilo, es decir, triacetina, de Abitec), Capmul.TM. MCM (mono y diglicéridos de cadena mediana, de Abitec), Migyol.TM. 812 (triglicérido caprílico/cáprico, de Condea, Cranford N.J.), Migyol.TM. 829 (triglicérido caprílico/cáprico/succínico, de Condea), Migyol.TM. 840 (dicaprilato/dicaprato de propilenglicol, de Condea), Labrafil.TM. M1944CS (glicéridos de oleoil macrogol-6, de Gattefosse), Peceol.TM. (monooleato de glicerilo, de Gattefosse) y Maisine.TM. 35-1 (monooleato de glicerilo, de Gattefosse). Los aceites de triglicéridos de cadena mediana (alrededor de C.sub.8 a C.sub.10) son de particular interés. Estos solventes con frecuencia conforman la porción principal de

la composición, es decir, más de alrededor de 50 %, en general más de alrededor de 80 %, por ejemplo, alrededor de 95 % o 99 %. Los adyuvantes y aditivos también se pueden incluir con los solventes, principalmente, como agentes enmascaradores del sabor, agentes de palatabilidad y saborizantes, antioxidantes, estabilizantes, modificadores de textura y viscosidad y solubilizantes.

Las suspensiones, además del compuesto de la presente invención o la combinación, también pueden comprender portadores tales como agentes de suspensión, por ejemplo, alcoholes de isoestearilo etoxilados, polioxietilensorbitol y ésteres de sorbitán, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar, y tragacanto, o mezclas de estas sustancias, y similares.

Las composiciones para administración rectal o vaginal comprenden, preferentemente, supositorios, que se pueden preparar mezclando un compuesto de la presente invención o una combinación con excipientes o portadores no irritantes adecuados, tales como manteca de cacao, polietilenglicol o un supositorio de cera que son sólidos a temperatura ambiente normal, pero líquidas a temperatura corporal, y por lo tanto, se derriten en el recto o cavidad vaginal, lo que libera los componentes activos.

Las formas de dosis para administración tópica de los compuestos de la presente invención o las combinaciones incluyen pomadas, cremas, lociones, polvos y atomizadores. Los fármacos se mezclan con un excipiente, diluyente o portador aceptables desde el punto de vista farmacéutico, y cualquier conservante, amortiguador o propulsor que se necesite.

Algunos de los presentes compuestos pueden ser poco solubles en agua, por ejemplo, menos de alrededor de 1 µg/ml. Por lo tanto, las composiciones líquidas en solventes no acuosos solubilizantes, tales como los aceites de triglicéridos de cadena mediana descritos anteriormente, son una forma de dosis preferida para estos compuestos.

Las dispersiones sólidas amorfas, que incluyen dispersiones formadas mediante un proceso de secado por pulverización, también son una forma de dosis preferida para los compuestos poco solubles de la invención. "Dispersión amorfa sólida" significa un material sólido, en donde al menos una porción del compuesto poco soluble es en forma amorfa y se dispersa en un polímero hidrosoluble. "Amorfa" significa que el compuesto poco soluble no es cristalino. "Cristalina" significa que el compuesto exhibe un orden de largo alcance en tres dimensiones de al menos 100 unidades de repetición en cada dimensión. Por ende, el término amorfo pretende incluir no solo el material que no tiene esencialmente ningún orden, sino también el material que puede tener algún pequeño

grado de orden, pero el orden está en menos de tres dimensiones y/o está solo en distancias cortas. El material amorfo se puede caracterizar mediante técnicas conocidas en el estado de la técnica tales como cristalografía de difracción de rayos X de polvo (PXRD), RMN en estado sólido, o técnicas térmicas tales como calorimetría de barrido diferencial (DSC).

Preferentemente, al menos una porción importante (es decir, al menos alrededor de 60 % en peso) del compuesto poco soluble en la dispersión amorfa sólida es amorfa. El compuesto puede existir dentro de la dispersión amorfa sólida en regiones o dominios amorfos relativamente puros, como una solución sólida del compuesto distribuida de manera homogénea a lo largo del polímero o cualquier combinación de estos estados o aquellos estados intermedios entre ellos. Preferentemente, la dispersión amorfa sólida es sustancialmente homogénea, de modo que el compuesto amorfo se dispersa lo más homogéneamente posible a lo largo del polímero. Como se usa en la presente, "sustancialmente homogénea" significa que la fracción del compuesto que está presente en regiones o dominios amorfos relativamente puros dentro de la dispersión amorfa sólida es relativamente pequeña, en el orden de menos de 20 % en peso y, preferentemente, menos de 10 % en peso de la cantidad total de fármaco.

Los polímeros hidrosolubles adecuados para usar en las dispersiones sólidas amorfas deben ser inertes, en el sentido de que no reaccionan químicamente con el compuesto poco soluble de manera adversa, son aceptables desde el punto de vista farmacéutico, y tienen al menos algo de solubilidad en solución acuosa a pH fisiológicamente relevantes (por ejemplo, 1-8). El polímero puede ser neutro o ionizable, y debe tener una solubilidad acuosa de al menos 0,1 mg/ml sobre al menos una porción del rango de pH de 1-8.

Los polímeros hidrosolubles adecuados para usar con la presente invención pueden ser celulósicos o no celulósicos. Los polímeros pueden ser neutros o ionizables en solución acuosa. De estos, se prefieren los polímeros ionizables y celulósicos, en donde los polímeros celulósicos ionizables son de mayor preferencia.

Los polímeros hidrosolubles de ejemplo incluyen acetato succinato de hidroxipropilmetilcelulosa (HPMCAS), hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa (HPMCP), carboximetilcelulosa (CMEC), acetato ftalato de celulosa (CAP), acetato trimelitato de celulosa (CAT), polivinilpirrolidona (PVP), hidroxipropilcelulosa (HPC), metilcelulosa (MC), copolímeros en bloque de óxido de etileno y óxido de propileno (PEO/PPO, también conocido como poloxámeros), y mezclas de estos. Los polímeros de especial preferencia incluyen HPMCAS, HPMC,

HPMCP, CMEC, CAP, CAT, PVP, poloxámeros, y mezclas de estos. El de máxima preferencia es HPMCAS. Ver la publicación de la solicitud de patente europea N.º 0 901 786 A2, cuya divulgación se incorpora en la presente por referencia.

Las dispersiones sólidas amorfas se pueden preparar de acuerdo con cualquier proceso para formar dispersiones sólidas amorfas que genere que al menos una porción principal (al menos 60 %) del compuesto poco soluble esté en estado amorfo. Tales procesos incluyen procesos mecánicos, térmicos y con solventes. Los procesos mecánicos de ejemplo incluyen molienda y extrusión; los procesos de fundición incluyen fusión a temperatura alta, fusión de solvente modificado y procesos de fusión-solidificación; y procesos con solventes que incluyen precipitación de no solvente, recubrimiento por pulverización y secado por pulverización. Ver, por ejemplo, las siguientes patentes estadounidenses, cuyas divulgaciones pertinentes se incorporan en la presente por referencia: N.ºs 5.456.923 y 5.939.099, que describen la formación de dispersiones mediante procesos de extrusión; N.ºs 5.340.591 y 4.673.564, que describen la formación de dispersiones mediante procesos de molienda; y N.ºs 5.707.646 y 4.894.235, que describen la formación de dispersiones mediante procesos de fusión-solidificación. En un proceso preferido, la dispersión sólida amorfa se forma mediante secado por pulverización, como se describe en la publicación de la solicitud de patente europea N.º 0 901 786 A2. En este proceso, el compuesto y el polímero se disuelven en un solvente, tal como acetona o metanol, y el solvente luego se retira rápidamente de la solución mediante secado por pulverización para formar la dispersión sólida amorfa. Las dispersiones sólidas amorfas se pueden preparar para que contengan hasta alrededor de 99 % en peso del compuesto, por ejemplo, 1 % en peso, 5 % en peso, 10 % en peso, 25 % en peso, 50 % en peso, 75 % en peso, 95 % en peso o 98 % en peso, según se desee.

La dispersión sólida se puede usar como forma de dosis en sí misma o puede servir como un producto para uso en manufactura (MUP) en la preparación de otras formas de dosis, tales como cápsulas, comprimidos, soluciones o suspensiones. Un ejemplo de una suspensión acuosa es una suspensión acuosa de 1:1 (p/p) de compuesto/dispersión secada por pulverización de HPMCAS-HF que contiene 2,5 mg/ml de compuesto en 2 % de polisorbato-80. Las dispersiones sólidas para usar en un comprimido o una cápsula se mezclarán, en general, con otros excipientes o adyuvantes encontrados generalmente en esas formas de dosis. Por ejemplo, un agente de relleno de ejemplo para cápsulas contiene 2:1 (p/p) de compuesto/dispersión secada por pulverización de HPMCAS-MF (60 %), lactosa (flujo rápido) (15 %), celulosa

microcristalina (por ejemplo, Avicel.sup.(R0-102) (15,8 %), almidón de sodio (7 %), lauril sulfato de sodio (2 %) y estearato de magnesio (1 %).

Los polímeros de HPMCAS están disponibles en un grado menor, medio y alto como Aqoa.sup.(R)-LF, Aqoat.sup.(R)-MF y Aqoat.sup.(R)-HF, respectivamente de Shin-Etsu Chemical Co., LTD, Tokio, Japón. En general, se prefieren los grados más altos de MF y HF.

De manera conveniente, un compuesto de la presente invención (o combinación) se puede transportar en agua potable, de modo que una dosificación terapéutica del compuesto se ingiera con el suministro de agua diario. El compuesto se puede medir directamente en agua potable, preferentemente, en forma de un líquido, concentrado hidrosoluble (tal como una solución acuosa de una sal hidrosoluble).

Estos compuestos también se pueden administrar a animales que no sean seres humanos, por ejemplo, para las afecciones detalladas anteriormente. La dosis exacta administrada de cada ingrediente activo variará según diversos factores que incluyen, entre otros, el tipo de animal y el estadio de la enfermedad que se trata, la edad del animal y las vías de administración.

Se usa una dosis de los agentes de combinación farmacéuticos que se van a usar junto con los compuestos de la Fórmula (I) o (II), la cual es eficaz para la afección que se está tratando. Las dosis se pueden determinar mediante ensayos estándares, tales como aquellos a los que se hace referencia y se proporcionan en la presente. Los agentes combinados se pueden administrar de manera simultánea o secuencial en cualquier orden.

Estas dosis se basan en un sujeto humano promedio con un peso de alrededor de 60 kg a 70 kg. El médico podrá determinar fácilmente las dosis para los sujetos cuyo peso no se encuentra en este rango, tales como niños y ancianos.

Los regímenes de dosis se pueden ajustar para proporcionar la respuesta óptima deseada. Por ejemplo, se puede administrar un solo bolo, se pueden administrar varias dosis divididas con el tiempo, o la dosis se puede reducir o aumentar proporcionalmente, según lo requiera la situación terapéutica. En especial, resulta conveniente formular composiciones parenterales en forma de dosis unitaria para facilitar la administración y la uniformidad de la dosis. Como se usa en la presente, la forma de dosis unitaria se refiere a unidades físicamente diferenciadas útiles como dosis unitarias para los sujetos mamíferos que se tratan; cada unidad contiene una cantidad predeterminada de compuesto activo, calculada para producir el efecto terapéutico deseado junto con el portador farmacéutico requerido. La especificación de las formas

de dosis unitaria de la invención está determinada y depende directamente de (a) las características únicas del agente quimioterapéutico y el efecto terapéutico o profiláctico particular que se desee lograr, y (b) las limitaciones inherentes en el estado de la técnica para formar un compuesto activo para el tratamiento de la sensibilidad en individuos.

De este modo, la persona del oficio de nivel medio tendrá en cuenta, en función de la divulgación proporcionada en la presente, que la dosis y el régimen de dosificación se ajustan de acuerdo con los métodos conocidos en el ámbito terapéutico. Es decir, se puede determinar con facilidad la dosis máxima tolerable, la cantidad eficaz que proporciona un beneficio terapéutico detectable a un paciente y los requisitos temporales para administrar cada agente a fin de proporcionar un beneficio terapéutico detectable al paciente. En consecuencia, si bien ciertas dosis y regímenes de administración se ejemplifican en la presente, estos ejemplos no limitan de modo alguno la dosis y el régimen de administración que se pueden proporcionar a un paciente al poner en práctica la presente invención.

Debe tenerse en cuenta que los valores de la dosificación pueden variar según el tipo y la gravedad de la afección que se desee aliviar, y pueden incluir dosis únicas o múltiples. Debe tenerse en cuenta que para cualquier sujeto particular, los regímenes de dosificación específicos deben ajustarse con el transcurso del tiempo según las necesidades individuales y el criterio profesional de la persona que administra o supervisa la administración de las composiciones; y que los rangos de dosificación indicados en la presente son solo ejemplificativos y no pretenden limitar el alcance ni la práctica de la composición reivindicada. Por ejemplo, las dosis se pueden ajustar según los parámetros farmacocinéticos o farmacodinámicos, que pueden incluir efectos clínicos, tales como efectos tóxicos y/o valores de laboratorio. De este modo, la presente invención abarca el aumento de la dosis intrapaciente según lo determine una persona del oficio de nivel medio. La determinación de dosis adecuadas y de regímenes de administración del agente quimioterapéutico es conocida en el ámbito pertinente, y se entiende que la persona del oficio de nivel medio podrá efectuarla una vez proporcionadas las explicaciones divulgadas en la presente.

La presente invención también comprende el uso de un compuesto de la Fórmula (I) o (II) para usar como medicamento (tal como un comprimido de dosis unitaria o una cápsula de dosis unitaria). En otra forma de realización, la presente invención comprende el uso de un compuesto de la Fórmula (I) o (II) para la fabricación de un medicamento (tal como un comprimido de dosis unitaria o una cápsula de dosis unitaria) para tratar una o más de las afecciones identificadas previamente en las secciones

anteriores que analizan los métodos de tratamiento.

Una composición farmacéutica de la invención se puede preparar, envasar o vender en cantidades, como una dosis unitaria única o como una pluralidad de dosis unitarias únicas. Como se usa en la presente, una "dosis unitaria" es una cantidad diferenciada de la composición farmacéutica que comprende una cantidad predeterminada del ingrediente activo. La cantidad de ingrediente activo es generalmente igual a la dosis de ingrediente activo que se administraría a un sujeto o una fracción conveniente de dicha dosis tal como una mitad o un tercio de dicha dosis.

Estos agentes y compuestos de la invención se pueden combinar con vehículos aceptables desde el punto de vista farmacéutico, tales como solución salina, solución de Ringer, solución de dextrosa, y similares. El régimen de dosificación particular, es decir, la dosis, el tiempo y la repetición, dependerá del sujeto en particular y de sus antecedentes patológicos.

Los portadores, excipientes o estabilizadores aceptables no son tóxicos para los receptores en las dosificaciones y concentraciones usadas, y pueden comprender amortiguadores, tales como fosfato, citrato, y otros ácidos orgánicos; sales tales como cloruro de sodio; antioxidantes que incluyen ácido ascórbico y metionina; conservantes (tales como cloruro de octadecildimetilbencil amonio; cloruro de hexametonio; cloruro de benzalconio, cloruro de benzetonio; alcohol de fenol, butilo o bencilo; parabenos de alquilo, tales como parabeno de metilo o propilo; catecol; resorcinol; ciclohexanol; 3-pentanol; y m-cresol); polipéptidos de bajo peso molecular (menos de alrededor de 10 residuos); proteínas, tales como albúmina de suero, gelatina o inmunoglobulinas; polímeros hidrófilos tales como polivinilpirrolidona; aminoácidos tales como glicina, glutamina, asparagina, histidina, arginina, o lisina; monosacáridos, disacáridos y otros carbohidratos, que incluyen glucosa, manosa o dextrinas; agentes quelantes, tales como EDTA; azúcares, tales como sacarosa, manitol, trehalosa o sorbitol; contraiones formadores de sales tales como sodio; complejos de metales (por ejemplo, complejos de Zn-proteína); y/o tensioactivos no iónicos, tales como TWEENTM, PLURONICSTM o polietilenglicol (PEG).

Los liposomas que contienen estos agentes y/o compuestos de la invención se preparan mediante métodos conocidos en el estado de la técnica, tal como se describe en las patentes estadounidenses N.ºs 4.485.045 y 4.544.545. Los liposomas con un mejor tiempo de circulación se describen en la patente estadounidense N.º 5,013,556. En particular, los liposomas útiles se pueden generar mediante el método de evaporación de fase inversa con una composición de lípidos que comprende

fosfatidilcolina, colesterol y fosfatidiletanolamina derivada de PEG (PEG-PE). Los liposomas se extruden a través de filtros con un tamaño de poro definido para obtener liposomas con el diámetro deseado.

Estos agentes y/o los compuestos de la invención también se pueden atrapar en microcápsulas preparadas, por ejemplo, mediante técnicas de coacervación o mediante polimerización interfacial, por ejemplo, microcápsulas de gelatina o hidroximetilcelulosa y microcápsulas de poli-(metilmetacrilato), respectivamente, en sistemas de suministro de fármacos coloidales (por ejemplo, liposomas, microesferas de albúmina, microemulsiones, nanopartículas y nanocápsulas) o en macroemulsiones. Tales técnicas se divulgan en Remington, The Science and Practice of Pharmacy 20.^a ed., Mack Publishing (2000).

Se pueden usar preparaciones de liberación sostenida. Los ejemplos adecuados de preparaciones de liberación sostenida incluyen matrices semipermeables de polímeros hidrófobos sólidos que contienen el compuesto de la invención, en donde las matrices están en forma de artículos con forma, por ejemplo, películas o microcápsulas. Los ejemplos de matrices de liberación sostenida incluyen poliésteres, hidrogeles (por ejemplo, poli(2-hidroxietil-metacrilato), o 'poli(vinilalcohol)), polilactidas (patente estadounidense N.º 3.773.919), copolímeros de ácido L-glutámico y etil-L-glutamato, acetato de etilen-vinilo no degradable, copolímeros degradables de ácido láctico-ácido glicólico tales como aquellos utilizados en LUPRON DEPOTTM (microesferas inyectables compuestas de copolímeros de ácido láctico-ácido glicólico y acetato de leuprolida), acetato isobutirato de sacarosa, y ácido poli-D-(-)-3-hidroxibutírico.

Las formulaciones que se usarán para la administración intravenosa deben ser estériles. Esto se logra con facilidad, por ejemplo, mediante la filtración a través de membranas de filtración estériles. En general, los compuestos de la invención se colocan en un recipiente que tiene un puerto de acceso estéril, por ejemplo, una bolsa o vial de solución intravenosa que tiene un tapón que se puede perforar con una aguja de inyección hipodérmica.

Las emulsiones adecuadas se pueden preparar usando emulsiones de grasa disponibles en el comercio, tales como IntralipidTM, LiposynTM, InfonutrolTM, LipofundinTM y LipiphysanTM. El ingrediente activo se puede disolver en una composición de emulsión mezclada previamente o, de manera alternativa, se puede disolver en un aceite (por ejemplo, aceite de soja, aceite de cártamo, aceite de algodón, aceite de sésamo, aceite de maíz o aceite de almendras) y una emulsión formada al mezclar con un fosfolípido (por ejemplo, fosfolípidos de huevo, fosfolípidos de soja o lecitina de soja) y agua. Cabe

aclarar que se pueden agregar otros ingredientes, por ejemplo, glicerol o glucosa, para ajustar la tonicidad de la emulsión. En general, las emulsiones adecuadas contienen hasta 20 % de aceite, por ejemplo, entre 5 y 20 %. La emulsión de grasa puede comprender gotas de grasa de entre 0,1 y 1,0 μm , en particular, entre 0,1 y 0,5 μm , y tener un pH en el rango de 5,5 a 8,0.

Las composiciones de emulsiones pueden ser aquellas que se preparan al mezclar un compuesto de la invención con IntralipidTM o los componentes de esta (aceite de soja, fosfolípidos de huevo, glicerol y agua).

Las composiciones para inhalación o insuflación incluyen soluciones y suspensiones en solventes orgánicos o acuosos aceptables desde el punto de vista farmacéutico, o mezclas de estos, y polvos. Las composiciones líquidas o sólidas pueden contener excipientes aceptables desde el punto de vista farmacéutico adecuados como se indicó anteriormente. En algunas formas de realización, las composiciones se administran por la vía respiratoria oral o nasal para efecto local o sistémico. Las composiciones en solventes aceptables desde el punto de vista farmacéutico preferentemente estériles se pueden nebulizar mediante el uso de gases. Las soluciones nebulizadas se pueden inhalar directamente del nebulizador o se puede conectar el nebulizador a una tienda, máscara facial o respirador de presión positiva intermitente. Las composiciones de soluciones, suspensiones o polvos se pueden administrar, preferentemente por vía oral o nasal, desde dispositivos que administran la formulación de manera adecuada.

Los compuestos de la presente pueden formularse para la administración oral, bucal, intranasal, parenteral (por ejemplo, intravenosa, intramuscular o subcutánea) o rectal o en una forma adecuada para la administración por inhalación. Los compuestos de la invención también se pueden formular para el suministro sostenido.

Los métodos para preparar distintas composiciones farmacéuticas con una determinada cantidad de ingrediente activo son conocidos por las personas del oficio de nivel medio o serán evidentes luego de analizar la presente divulgación. Para obtener ejemplos de métodos para preparar composiciones farmacéuticas, ver Remington's Pharmaceutical Sciences, 20.^a edición (Lippincott Williams & Wilkins, 2000).

Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención pueden contener 0,1 %-95 % de los compuestos de la presente invención, preferentemente, 1 %-70 %. En cualquier caso, la composición que se administrará contiene una cantidad de compuestos de acuerdo con la invención en una cantidad eficaz para tratar la

enfermedad/afección del sujeto en tratamiento.

Debido a que un aspecto de la presente invención se refiere al tratamiento de las enfermedades/afecciones descritas en la presente con una combinación de ingredientes activos que se pueden administrar por separado, la invención también se refiere a la combinación de composiciones farmacéuticas separadas en forma de kit. El kit comprende dos composiciones farmacéuticas separadas: un compuesto de la Fórmula (I) o (II), un profármaco de este o una sal de dicho compuesto o profármaco y un segundo compuesto como se describió anteriormente. El kit comprende un medio para contener las composiciones separadas, tal como un recipiente, una botella dividida o un envoltorio de papel aluminio dividido. En general, el kit comprende instrucciones para la administración de los componentes separados. La forma del kit es de particular conveniencia cuando los componentes separados se administran preferentemente en diferentes formas de dosificación (por ejemplo, oral y parenteral), cuando se administran en diferentes intervalos de dosificación o cuando el médico tratante desea la titulación de los componentes individuales de la combinación.

Un ejemplo de kit es el denominado blíster. Los blísteres son conocidos en la industria del envasado y se usan ampliamente para el envasado de formas de dosis unitarias farmacéuticas (comprimidos, cápsulas y similares). En general, los blísteres consisten en una película de material relativamente rígido cubierto con una lámina, preferentemente, de un material plástico transparente. Durante el proceso de envasado se forman cavidades en la lámina de plástico. Las cavidades tienen el tamaño y la forma de los comprimidos o las cápsulas que se envasarán. Luego, los comprimidos o las cápsulas se colocan en las cavidades, y la película de material relativamente rígido se sella contra la lámina de plástico sobre la cara de la lámina opuesta a la dirección en la que se formaron las cavidades. En consecuencia, los comprimidos o las cápsulas quedan sellados en las cavidades entre la lámina de plástico y la película. Preferentemente, la resistencia de la película es tal que los comprimidos o las cápsulas se pueden retirar manualmente del blíster presionando la cavidad; de esta manera, se forma una abertura en la película, en el lugar de la cavidad. El comprimido o la cápsula luego se pueden retirar a través de esa abertura.

Puede ser conveniente proporcionar una ayuda memoria en el kit, por ejemplo, en forma de números al lado de los comprimidos o las cápsulas, en donde los números corresponden a los días del régimen en los que se especifica que deben ingerirse los comprimidos o las cápsulas. Otro ejemplo de una ayuda memoria es un calendario impreso en la tarjeta, por ejemplo, "Primera semana, lunes, martes, etc... Segunda

semana, lunes, martes..." etc. Otras variaciones de la ayuda memoria serán evidentes. Una "dosis diaria" puede ser un único comprimido o cápsula o varias píldoras o cápsulas administradas en un determinado día. Asimismo, una dosis diaria del compuesto de la Fórmula (I) o (II) puede consistir en un comprimido o cápsula, mientras que una dosis diaria del segundo compuesto puede consistir en varios comprimidos o cápsulas, y viceversa. La ayuda memoria debe reflejar esto.

En otra forma de realización específica de la invención, se proporciona un dosificador diseñado para suministrar las dosis diarias de a una por vez, en el orden en que deben usarse. Preferentemente, el dosificador está equipado con una ayuda memoria para facilitar adicionalmente el cumplimiento del régimen. Un ejemplo de esa ayuda memoria es un contador mecánico que indica la cantidad de dosis diarias que se administraron. Otro ejemplo de ayuda memoria es un microchip de memoria a pilas acoplado a una pantalla de cristal líquido, o una señal recordatoria audible que, por ejemplo, lee en voz alta la fecha en que se tomó la última dosis y/o le recuerde al sujeto cuándo debe tomar la siguiente dosis.

Además, debido a que un aspecto de la presente invención se refiere al tratamiento de las enfermedades/afecciones descritas en la presente con una combinación de ingredientes activos que se pueden administrar de manera conjunta, la invención también se refiere a la combinación de composiciones farmacéuticas separadas en una sola forma de dosificación, tal como un solo comprimido o cápsula, un comprimido o cápsula de dos capas o de múltiples capas, o mediante el uso de componentes o compartimentos segregados dentro de un comprimido o una cápsula.

El ingrediente activo se puede suministrar como una solución en un vehículo acuoso o no acuoso, con o sin solventes, cosolventes, excipientes o agentes formadores de complejos adicionales seleccionados de diluyentes, excipientes, vehículos o portadores aceptables desde el punto de vista farmacéutico.

El ingrediente activo se puede formular como una dispersión sólida o como un sistema de suministro de fármacos autoemulsionantes (SEDDS) con excipientes aceptables desde el punto de vista farmacéutico.

El ingrediente activo se puede formular como un comprimido o una cápsula de liberación inmediata o de liberación suspendida. Alternativamente, el ingrediente activo se puede suministrar como el ingrediente activo solo dentro de una cubierta de la cápsula, sin excipientes adicionales.

EJEMPLOS

Procedimientos experimentales

A menos que se indique lo contrario, los materiales de inicio están disponibles, en general, de fuentes comerciales, tales como Aldrich Chemicals Co. (Milwaukee, WI), Lancaster Synthesis, Inc. (Windham, NH), Acros Organics (Fairlawn, NJ), Maybridge Chemical Company, Ltd. (Cornwall, Inglaterra) y Tyger Scientific (Princeton, NJ). Se han utilizado ciertas abreviaturas y acrónimos comunes, que pueden incluir: AcOH (ácido acético), DBU (1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno), CDI (1,1'-carbonildiimidazol), DCM (diclorometano), DEA (dietilamina), DIPEA (N,N-diisopropiletilamina), DMAP (4-dimetilaminopiridina), DMF (N,N-dimetilformamida), DMSO (dimetilsulfóxido), EDCI (1-[3-(dimetilamino)propil]-3-etilcarbodiimida clorhidrato), Et₂O (dietiléter), EtOAc (acetato de etilo), EtOH (etanol), HATU (O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio hexafluorofosfato), HBTU (O-benzotriazol-1-il-N,N,N',N'-tetrametiluronio hexafluorofosfato), HOBT (1-hidroxibenzotriazol), iPrOH (2-propanol), KHMDS (bis(trimetilsilil)amida de potasio), MeOH (metanol), MTBE (ter-butil metil éter), NaBH(OAc)₃ (triacetoxiborohidruro de sodio), NaHMDS (bis(trimetilsilil)amida de sodio), NMP (N-metilpirrolidona), SEM ([2-(trimetilsilil)etoxi]metil), TEA (triethylamina), TFA (ácido trifluoroacético), THF (tetrahidrofurano) y T3P (anhídrido de ácido propano fosfónico; 2,4,6-tripropil-1,3,5,2,4,6-trioxatrilfosfinan 2,4,6-trióxido).

Las reacciones se llevaron a cabo en el aire o, cuando se usaron intermediarios o reactivos sensibles al oxígeno o la humedad, en una atmósfera inerte (nitrógeno o argón). Cuando se consideró apropiado, los aparatos de reacción se secaron al vacío dinámico usando una pistola de calor, y se usaron solventes anhidros (productos Sure-Seal™ de Aldrich Chemical Company, Milwaukee, Wisconsin o productos DriSolv™ de EMD Chemicals, Gibbstown, NJ). En algunos casos, los solventes comerciales se pasaron a través de columnas que tienen tamices moleculares 4Å, hasta que se obtuvieron los estándares de QC para agua: a) <100 ppm para diclorometano, tolueno, N,N-dimetilformamida y tetrahidrofurano; b) <180 ppm para metanol, etanol, 1,4-dioxano y diisopropilamina. Para reacciones muy sensibles, los solventes también se trataron con sodio metálico, hidruro de calcio o tamices moleculares, y se destilaron justo antes del uso. Se usaron otros reactivos y solventes comerciales sin purificación adicional. Para los procedimientos que hacen referencia a síntesis en otros Ejemplos o Métodos, las condiciones de reacción (tiempo de reacción y temperatura) pueden variar. En general, los productos se secaron al vacío antes de usarlos en otras reacciones o de someterlos a pruebas biológicas.

Cuando se indicó, las reacciones se calentaron mediante irradiación de microondas usando microondas Biotage Initiator o Personal Chemistry Emrys Optimizer.

El progreso de las reacciones se monitoreó usando cromatografía de capa delgada (TLC), cromatografía de líquidos-espectrometría de masa (LCMS) y/o cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC). La TLC se llevó a cabo en placas previamente recubiertas de gel de sílice con un indicador de fluorescencia (longitud de onda de excitación de 254 nm) y se visualizó en luz UV y/o con tinción de I₂, KMnO₄, CoCl₂, ácido fosfomolibdico y/o molibdato de amonio cérico. Los datos de LCMS se obtuvieron de un instrumento Agilent 1100 Series con un automuestreador de Leap Technologies, columnas Gemini C18, gradientes de MeCN/agua y TFA, ácido fórmico o modificadores de hidróxido de amonio. El eluyente de columna se analizó usando un espectrómetro de masa Waters ZQ que escanea modos de iones positivos y negativos de 100 a 1200 Da. También se usaron otros instrumentos similares. Los datos de HPLC se obtuvieron en un instrumento Agilent 1100 Series mediante el uso de columnas Gemini o XBridge C18, gradientes de MeCN/agua y TFA o modificadores de hidróxido de amonio. La muestra se analizó en un barrido mediante detector selectivo de masa HP 5973 de 50 a 550 Da mediante ionización de electrones. Las purificaciones se llevaron a cabo mediante cromatografía de líquidos de resolución media (MPLC) usando instrumentos Isco CombiFlash Companion, AnaLogix IntelliFlash 280, Biotage SP1 o Biotage Isolera One y cartuchos de sílice Isco RediSep o Biotage Snap cargados previamente. Las purificaciones quirales se realizaron mediante cromatografía quiral de fluido supercrítico (SFC) usando instrumentos Berger o Thar; columnas ChiralPAK-AD, -AS, -IC, Chiralcel-OD u -OJ; y mezclas de CO₂ con MeOH, EtOH, iPrOH o MeCN, por separado o modificadas usando TFA o iPrNH₂. La detección de UV se usó para activar la recolección de fracciones. Para procedimientos que hacen referencia a síntesis en otros Ejemplos o Métodos, las purificaciones pueden variar: en general, los solventes y las relaciones de solventes usados para eluyentes/gradients se eligieron para proporcionar R_s o tiempos de retención adecuados.

Los datos de espectrometría de masa se informaron del análisis de LCMS. La espectrometría de masa (MS) se realizó mediante ionización química de presión atmosférica (APCI), ionización de electrospray (ESI), ionización por impacto de electrones (EI) o fuentes de ionización por dispersión de electrones (ES). Los desplazamientos químicos de espectroscopía de resonancia magnética nuclear de protones (¹H RMN) se expresaron en partes por millón campo abajo de tetrametilsilano y se registraron en espectrómetros Varian, Bruker o Jeol a 300, 400, 500 o 600 MHz. Los desplazamientos químicos se expresan en partes por millón (ppm, δ) en referencia a los picos residuales de solventes deuterados (cloroformo, 7,26 ppm; CD₂HOD, 3,31

ppm; acetonitrilo- d_2 , 1,94 ppm; dimetil sulfóxido- d_6 , 2,50 ppm; DHO, 4,79 ppm). Las formas de los picos se describen de la siguiente manera: s, singulete; d, doblete; t, triplete; q, cuarteto; quin, quinteto, m, multiplete; br s, singulete amplio; app, aparente. Los datos de SFC analítica se obtuvieron de un instrumento analítico Berger como se describió anteriormente. Los datos de rotación óptica se obtuvieron en un polarímetro PerkinElmer modelo 343 mediante el uso de una celda de 1 dm. La cromatografía en gel de sílice se realizó principalmente mediante sistemas Biotage o ISCO a presión media con columnas preenvasadas por varios proveedores comerciales, que incluyen Biotage e ISCO. Los microanálisis fueron realizados por Quantitative Technologies Inc. y estuvieron dentro del 0,4 % de los valores calculados.

A menos que se indique lo contrario, las reacciones químicas se realizaron a temperatura ambiente (alrededor de 23 grados Celsius).

A menos que se indique lo contrario, todos los reactivos se obtuvieron comercialmente sin purificaciones adicionales o se prepararon mediante métodos conocidos en la literatura.

Los términos “concentrado”, “evaporado” y “concentrado al vacío” se refieren a la eliminación de solvente a presión reducida en un evaporador giratorio con un baño a una temperatura menor de 60° C. Las abreviaturas “min” y “h” significan “minutos” y “horas”, respectivamente. El término “TLC” se refiere a cromatografía de capa delgada, “temperatura ambiente o rt” significa una temperatura de 18 a 25 °C, “LCMS” se refiere a cromatografía de líquidos-espectrometría de masa, “UPLC” se refiere a cromatografía de líquidos de ultrarresolución y “HPLC” se refiere a cromatografía de líquidos de alto rendimiento, “SFC” se refiere a cromatografía de fluido supercrítico.

La hidrogenación se puede realizar en un agitador Parr en gas de hidrógeno presurizado, o en un aparato de hidrogenación de flujo Thales-nano H-Cube en hidrógeno completo y una velocidad de flujo entre 1-2 ml/min a temperatura especificada.

Los tiempos de retención de HPLC, UPLC, LCMS y SFC se midieron usando los métodos indicados en los procedimientos.

En algunos ejemplos, se realizaron separaciones quirales para separar enantiómeros de algunos compuestos de la invención (en algunos ejemplos, los enantiómeros separados se designaron ENT-1 y ENT-2, de acuerdo con su orden de elución; de manera similar, los diastereómeros separados se designaron DIAST-1 y DIAST-2, de acuerdo con su orden de elución). En algunos ejemplos, la rotación óptica de un enantiómero se midió usando un polarímetro. De acuerdo con los datos de su

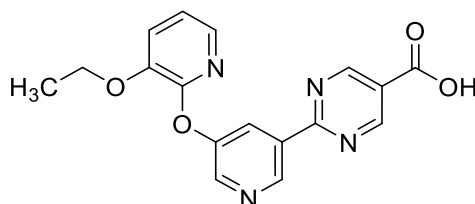
rotación observada (o los datos de su rotación específica), un enantiómero con una rotación en sentido horario se designó como el (+)-enantiómero, y un enantiómero con una rotación en sentido antihorario se designó como el (-)-enantiómero. Los compuestos racémicos se indican por la ausencia de estereoquímica representada o descrita, o por la presencia de (+/-) adyacente a la estructura; en este último caso, la estereoquímica indicada representa solo uno de los dos enantiómeros que componen la mezcla racémica.

A continuación se ilustra la síntesis de diversos compuestos de la presente invención. Otros compuestos dentro del alcance de la presente invención se pueden preparar mediante los métodos ilustrados en estos ejemplos, ya sea solos o combinados con técnicas generalmente conocidas en el estado de la técnica. Todos los materiales de inicio en estas Preparaciones y Ejemplos se encuentran disponibles en el comercio o se pueden preparar mediante métodos conocidos en el estado de la técnica o como se describen en la presente.

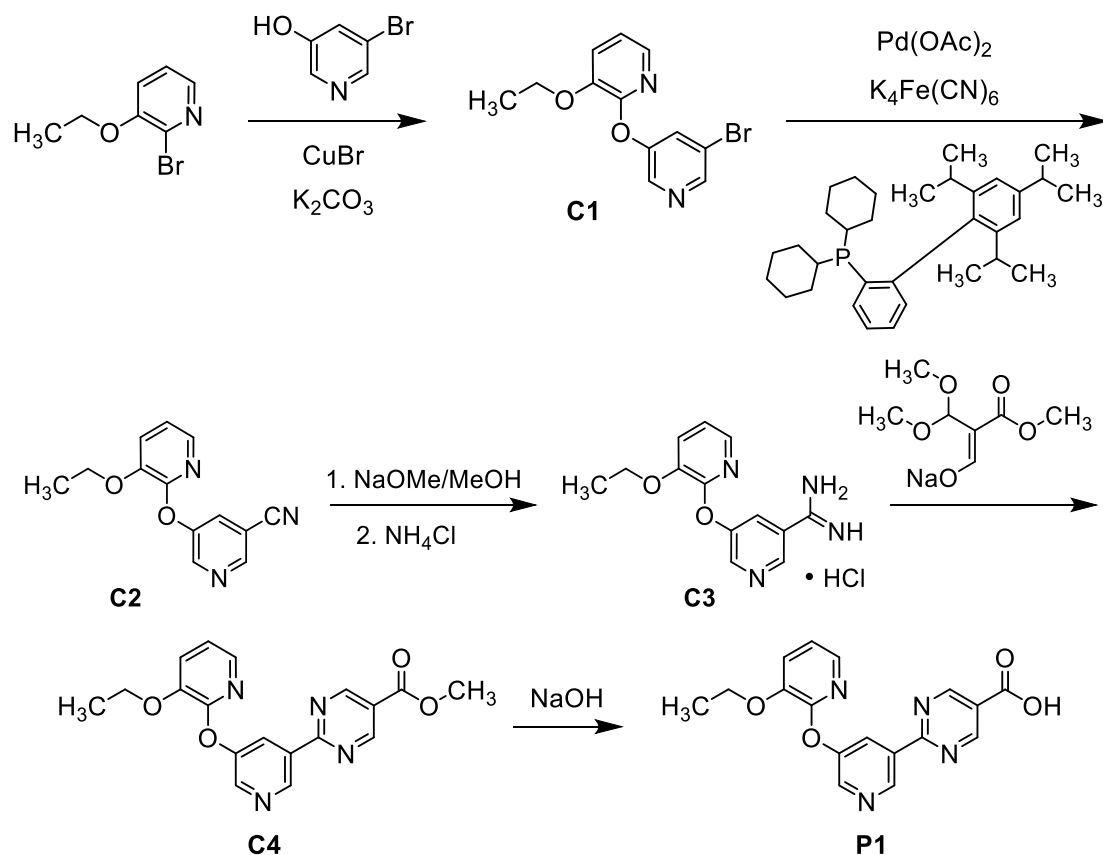
Los compuestos e intermediarios descritos a continuación se nombraron usando la convención de nomenclatura proporcionada por ACD/ChemSketch 2017,2,1, File Version C40H41, Build 99535 (Advanced Chemistry Development, Inc., Toronto, Ontario, Canadá). La convención de nomenclatura proporcionada por ACD/ChemSketch 2017.2.1 es conocida por las personas del oficio de nivel medio y se considera que la convención de nomenclatura proporcionada por ACD/ChemSketch 2017.2.1 en general cumple con las recomendaciones IUPAC (Unión Internacional de Química Pura y Aplicada) con respecto a las reglas de Nomenclatura de Química Orgánica y de Índice CAS.

Preparación P1

Ácido 2-{5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}pirimidin-5-carboxílico (P1)



P1



*Etapa 1. Síntesis de 2-[(5-bromopiridin-3-il)oxi]-3-etoxipiridina (**C1**).*

A una solución de 2-bromo-3-etoxipiridina (841 g, 4,16 mol) en *N,N*-dimetilformamida (5,4 l) se agregó bromuro de cobre(I) (538 g, 3,75 mol), y luego carbonato de potasio (1,04 kg, 7,52 mol). La mezcla resultante se agitó a 25 °C, y se agregó 5-bromopiridin-3-ol (652 g, 3,75 mol) en una porción, luego de lo cual la mezcla de reacción se calentó a 120 °C durante 16 horas. Luego se enfrió hasta 30 °C, y se vertió lentamente en una mezcla de hielo picado (9,0 kg) y una solución de amoníaco al 10 % en agua (7,0 l). Luego de la agitación de la suspensión resultante durante 1 hora, el precipitado se recolectó mediante filtración, y la torta de filtro se lavó con agua (3 x 5 l). Luego se agitó durante 1 hora en acetato de etilo (8 l) y se filtró; el filtrado se lavó con solución acuosa saturada de cloruro de sodio (5 l), se secó en sulfato de sodio, se filtró y se concentró al vacío. El residuo se agitó en éter de petróleo (2 l), y el sólido se recolectó mediante filtración para proporcionar **C1**. El filtrado se concentró a presión reducida, y el residuo se trituroó con éter de petróleo (200 ml) para obtener **C1** adicional. Los dos lotes se combinaron para proporcionar **C1** como un sólido amarillo. Rendimiento: 835 g, 2,83 mol, 75 %. ¹H RMN (400 MHz, cloroformo-*d*) δ 8,48 (d, *J* = 1,9 Hz, 1H), 8,44 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 7,71 (dd, *J* = 4,9, 1,5 Hz, 1H), 7,69 (dd, *J* = 2,2, 2,1 Hz, 1H), 7,24 (dd, *J* = 7,9, 1,5 Hz, 1H), 7,03 (dd, *J* = 7,9, 4,9 Hz, 1H), 4,14 (q, *J* = 7,0

Hz, 2H), 1,47 (t, $J = 7,0$ Hz, 3H).

Etapas 2. Síntesis de 5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-carbonitrilo (C2).

A una solución de **C1** (324 g, 1,10 mol) en *N,N*-dimetilformamida (3,0 l) se agregó trihidrato ferricianuro potásico(II) (697 g, 1,65 mol) en una porción, y luego agua (300 ml). La suspensión resultante se desgaseificó al vacío y luego se purgó con nitrógeno; este ciclo de evacuación-purga se llevó a cabo un total de cuatro veces. Luego se agregaron acetato de paladio(II) (4,94 g, 22,0 mmol) y 2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-triiisopropilbifenilo (XPhos; 18,7 g, 39,2 mmol), el ciclo de evacuación-purga se llevó a cabo cinco veces, y la mezcla de reacción se calentó a 105 °C durante 18 horas. Después de enfriar la mezcla de reacción hasta 50 °C, se filtró, y el filtrado se vertió agua helada (3 l) y luego se agitó durante aproximadamente 1 hora. El sólido resultante se recolectó mediante filtración, se disolvió en acetato de etilo (1,5 l), se lavó con solución saturada acuosa de cloruro de sodio (1 l), se secó, se filtró y se concentró al vacío para proporcionar **C2** (209 g) como un sólido amarillo. El filtrado acuoso anterior se extrajo con *ter*-butil metil éter (2 x 3 l), y las capas orgánicas combinadas se lavaron con solución saturada acuosa de cloruro de sodio (0,5 l), se secaron, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar **C2** adicional (20 g). Rendimiento combinado: 229 g, 0,949 mol, 86 %. ¹H RMN (400 MHz, cloroformo-*d*) δ 8,71 (d, $J = 2,7$ Hz, 1H), 8,68 (d, $J = 1,8$ Hz, 1H), 7,80 (dd, $J = 2,7, 1,7$ Hz, 1H), 7,70 (dd, $J = 4,9, 1,5$ Hz, 1H), 7,29 – 7,25 (m, 1H, asumido; parcialmente oculto por el pico de solvente), 7,08 (dd, $J = 8,0, 4,9$ Hz, 1H), 4,16 (q, $J = 7,0$ Hz, 2H), 1,49 (t, $J = 7,0$ Hz, 3H).

Etapas 3. Síntesis de 5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-carboximidamida, sal de clorhidrato (C3).

A una suspensión de 0 °C a 5 °C de **C2** (180 g, 0,746 mol) en metanol (1,3 l) se agregó una solución de metóxido de sodio en metanol (5 M; 30 ml, 150 mmol). Se agregó metanol (500 ml) para facilitar la agitación, luego de lo cual la mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente (18 °C) y se agitó durante 20 horas. Luego se enfrió hasta -40 °C y se trató con cloruro de amonio (48,0 g, 897 mmol) en una porción, luego de lo cual la mezcla se calentó hasta temperatura ambiente (18 °C) y se agitó durante 40 horas. Después de concentración al vacío para eliminar aproximadamente la mitad el metanol, el precipitado blanco resultante (sal inorgánica) se eliminó mediante filtración. El filtrado se diluyó con acetato de etilo (400 ml) y se concentró a presión reducida hasta un volumen de aproximadamente 400 ml. Este procedimiento de concentración-dilución en acetato de etilo se repitió dos veces para producir el intercambio de metanol con acetato de etilo. La filtración de la suspensión resultante produjo **C3** como un sólido

blanco. Rendimiento: 175 g, 0,594 mol, 80 %. ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8,82 (d, $J = 2$ Hz, 1H), 8,77 (d, $J = 2,6$ Hz, 1H), 8,05 (dd, $J = 2, 2$ Hz, 1H), 7,66 (dd, $J = 4,9, 1,5$ Hz, 1H), 7,57 (dd, $J = 7,9, 1,5$ Hz, 1H), 7,18 (dd, $J = 7,9, 4,9$ Hz, 1H), 4,17 (q, $J = 7,0$ Hz, 2H), 1,37 (t, $J = 7,0$ Hz, 3H).

Etapa 4. Síntesis de metil 2-{5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}pirimidin-5-carboxilato (C4).

Se agregó 2-(dimetoximetil)-3-metoxi-3-oxoprop-1-en-1-olato de sodio (201 g, 1,01 mol) en una porción a una solución de **C3** (249 g, 0,845 mol) en metanol (1,75 l). La mezcla de reacción, una suspensión espesa, se agitó a 18 °C durante 20 horas, luego de lo cual el precipitado se recolectó mediante filtración para obtener **C4** como un sólido blanco. Rendimiento: 259 g, 0,735 mol, 87 %. ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9,40 (d, $J = 1,8$ Hz, 1H), 9,35 (s, 2H), 8,67 (d, $J = 2,7$ Hz, 1H), 8,37 (dd, $J = 2,8, 1,8$ Hz, 1H), 7,69 (dd, $J = 4,8, 1,5$ Hz, 1H), 7,58 (dd, $J = 8,0, 1,5$ Hz, 1H), 7,19 (dd, $J = 8,0, 4,8$ Hz, 1H), 4,18 (q, $J = 7,0$ Hz, 2H), 3,93 (s, 3H), 1,36 (t, $J = 7,0$ Hz, 3H).

Etapa 5. Síntesis de ácido 2-{5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}pirimidin-5-carboxílico (P1).

Esta reacción se llevó a cabo en dos lotes paralelos: **C4** (321 g, 0,911 mol) se suspendió en metanol (1,6 l), se enfrió en un baño de agua helada, y se trató por goteo con solución de hidróxido de sodio (2 M; 684 ml, 1,37 mol). Después de completar la adición, la mezcla de reacción se agitó a 14 °C durante 16 horas, luego de lo cual los dos lotes se combinaron. La suspensión resultante se diluyó con agua (3,2 l), se enfrió con un baño de agua helada (aproximadamente 5 °C a 10 °C), y se ajustó hasta pH 3 a 4 mediante adición por goteo de 1 M de ácido clorhídrico. La mezcla se agitó a 14 °C durante 2 horas, luego se filtró; la torta de filtro se lavó secuencialmente con agua (2 x 1 l) y acetato de etilo (1 l), para obtener **P1** como un sólido blanco. Rendimiento combinado: 557 g, 1,65 mol, 91 %. LCMS m/z 338,9 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9,39 (d, $J = 1,8$ Hz, 1H), 9,31 (s, 2H), 8,65 (d, $J = 2,7$ Hz, 1H), 8,36 (dd, $J = 2,7, 1,8$ Hz, 1H), 7,68 (dd, $J = 4,9, 1,5$ Hz, 1H), 7,56 (dd, $J = 8,0, 1,5$ Hz, 1H), 7,17 (dd, $J = 8,0, 4,8$ Hz, 1H), 4,16 (q, $J = 7,0$ Hz, 2H), 1,36 (t, $J = 7,0$ Hz, 3H).

El material de la Preparación **P1** que se elaboró usando un procedimiento análogo al descrito anteriormente se analizó adicionalmente usando análisis de difracción de rayos X de polvo llevado a cabo en un difractómetro Bruker AXS D8 Endeavor equipado con una fuente de radiación Cu (promedio K- α). La rendija de divergencia se estableció en 15 mm de iluminación continua. La radiación difractaria se detectó mediante un detector PSD-Lynx Eye, con la abertura de PSD del detector

configurada en 3,00 grados. El voltaje y el amperaje del tubo de rayos X se fijaron a 40 kV y 40 mA, respectivamente. Los datos se recolectaron en el goniómetro zeta-zeta con una longitud de onda de Cu de 3,0 a 40,0 grados 2-zeta con un tamaño de paso de 0,01 grados y un tiempo de paso de 1,0 segundos. El cribado antidispersión se ajustó a una distancia fija de 1,5 mm. Las muestras se sometieron a 15 rotaciones/min durante la recolección. Las muestras se prepararon colocándolas en un portamuestras de bajo fondo de silicio y se rotaron durante la recolección.

Los datos se recolectaron usando el software Bruker DIFFRAC Plus, y el análisis se realizó mediante el software EVA diffract plus. El archivo de datos de PXRD no se procesó antes de la búsqueda de picos. Usando el algoritmo de búsqueda de picos en el software EVA, los picos seleccionados con un valor umbral de 1 se usaron para realizar asignaciones de picos preliminares. Para garantizar la validez, los ajustes se realizaron manualmente; el resultado de las asignaciones automatizadas se verificó visualmente y las posiciones de picos se ajustaron al máximo de picos. En general, se eligieron los picos con intensidad relativa ≥ 3 %. No se seleccionaron los picos que no se resolvieron o que coincidían con el ruido. Un error típico asociado a la posición de los picos de PXRD indicado en USP hasta $\pm 0,2^\circ 2\theta$ (USP-941). Se prevé alguna variación con respecto a las alturas de picos en función de cambios con tamaños y morfologías de cristales. Los patrones de difracción de rayos X de polvo se proporcionan en la Figura 6. Los datos de PXRD de esta figura se describen también más adelante en la Tabla AA. Mediante un procedimiento similar, se prepararon otros dos lotes de material cristalino de Preparación P1 y se analizaron como se describió más arriba. Los patrones de difracción de rayos X de polvo característicos para estos lotes se proporcionan en las Figuras 7 y 8.

Tabla AA: Picos de PXRD para el material cristalino de la Preparación P1, Forma 1

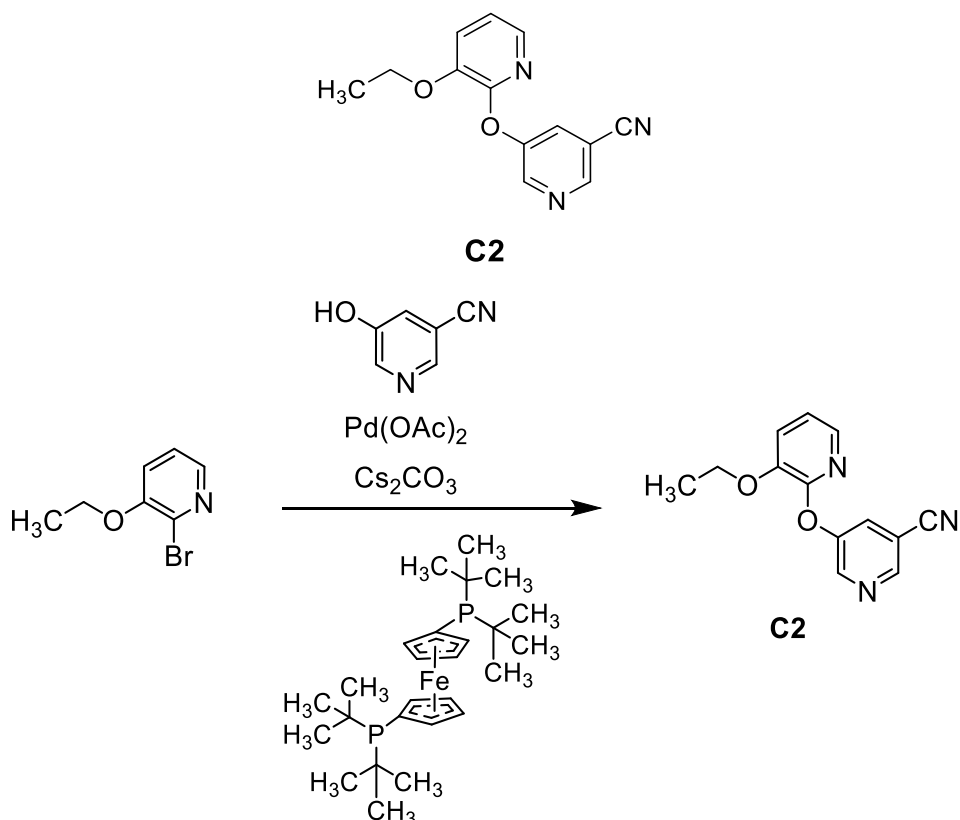
Ángulo 2 θ (°)	Intensidad relativa (%)	Ángulo 2 θ (°)	Intensidad relativa (%)	Ángulo 2 θ (°)	Intensidad relativa (%)
7,6	14	22,0	7	26,6	13
10,0	29	22,9	19	28,7	49
13,1	15	24,0	4	29,6	25
14,9	72	24,3	4	32,1	26
16,2	100	25,3	27	35,1	4
19,6	46	25,6	13	35,3	4
20,7	17	26,2	12		

Tabla AB: Picos de PXRD clave para caracterizar el material cristalino de la Preparación P1, Forma 1

Preparación P1, Forma 1
Ángulo 2Θ ($^{\circ}$) $\pm 0,2^{\circ}$
7,6, 10,0, 14,9, 16,2, 19,6

Síntesis alternativa de C2

5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-carbonitrilo (**C2**)

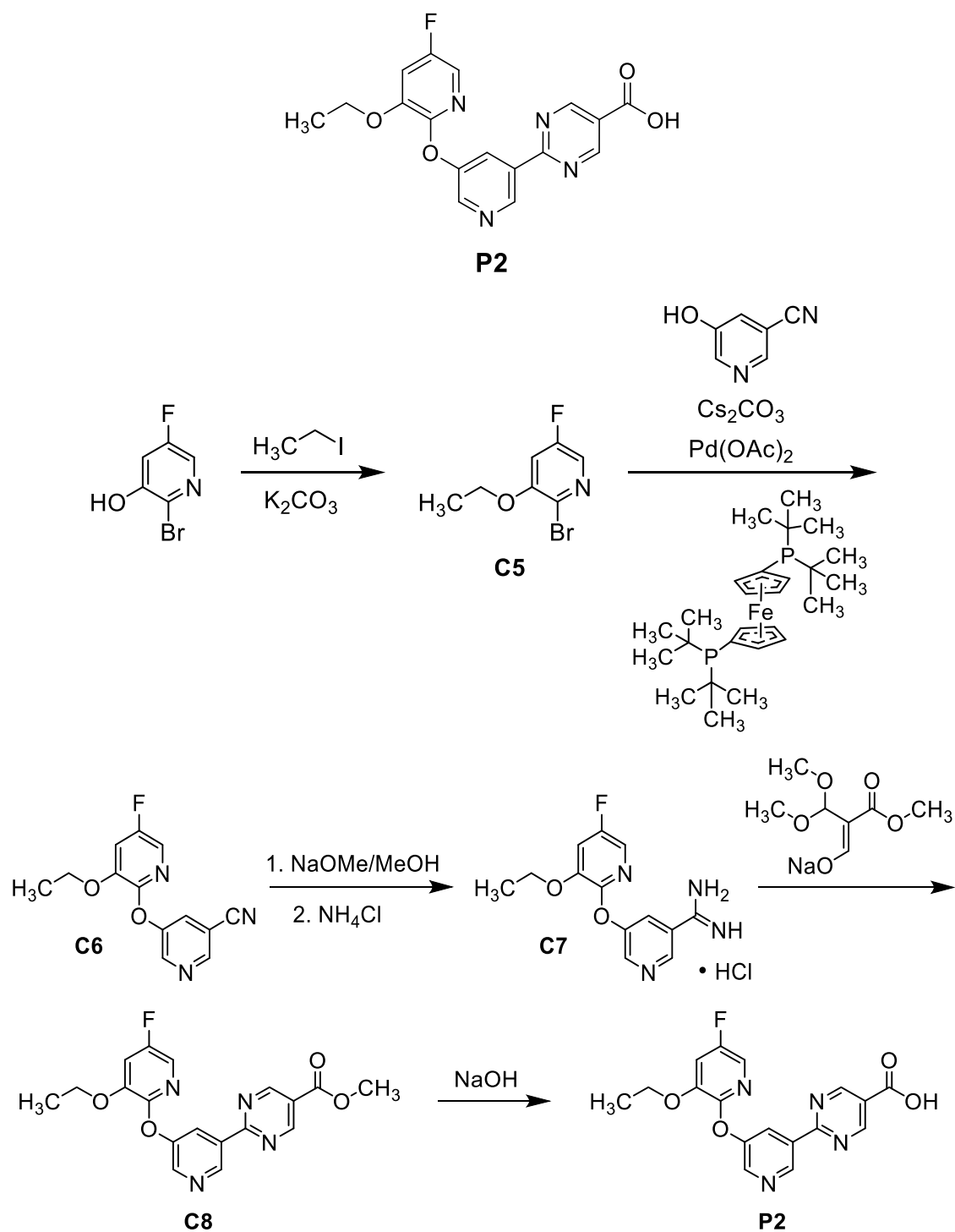


Una solución de 2-bromo-3-etoxipiridina (10,0 g, 49,5 mmol) en 1,4-dioxano (250 ml) se purgó con nitrógeno durante 2 minutos. Luego se agregó 5-hidroxipiridin-3-carbonitrilo (6,54 g, 54,4 mmol), acetato de paladio(II) (556 mg, 2,48 mmol), 1,1'-bis(di-*ter*-butilfosfino)ferroceno (1,41 g, 2,97 mmol) y carbonato de cesio (32,3 g, 99,1 mmol), y la mezcla de reacción se agitó a 105 $^{\circ}\text{C}$ durante 16 horas, luego de lo cual se combinó con una reacción similar llevada a cabo usando 2-bromo-3-etoxipiridina (7,00 g, 34,6 mmol) y se enfrió hasta temperatura ambiente. Después de la dilución con acetato de etilo (200 ml), las mezclas de reacción combinadas se filtraron a través de tierra diatomácea y se concentraron hasta secarse al vacío. El residuo se diluyó con acetato de etilo (200 ml), se lavó con solución saturada acuosa de cloruro de sodio (2 x 200 ml), se secó en sulfato de sodio, se filtró y se concentró a presión reducida. La cromatografía de gel de sílice (gradiente: 0 % a 35 % de acetato de etilo en éter de petróleo) produjo **C2** como un sólido amarillo. Rendimiento combinado: 18,0 g, 74,6 mmol, 89 %. LCMS

m/z 242,1 $[M+H]^+$. 1H RMN (400 MHz, cloroformo- d) δ 8,70 (d, $J = 2,7$ Hz, 1H), 8,66 (d, $J = 1,8$ Hz, 1H), 7,79 (dd, $J = 2,7, 1,8$ Hz, 1H), 7,69 (dd, $J = 4,9, 1,5$ Hz, 1H), 7,26 (dd, $J = 8,0, 1,5$ Hz, 1H), 7,07 (dd, $J = 8,0, 4,9$ Hz, 1H), 4,15 (q, $J = 7,0$ Hz, 2H), 1,47 (t, $J = 7,0$ Hz, 3H).

Preparación P2

Ácido 2-{5-[(3-etoxi-5-fluoropiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}pirimidin-5-carboxílico (**P2**)



Etapla 1. Síntesis de 2-bromo-3-etoxi-5-fluoropiridina (C5).

Se agregó carbonato de potasio (697 g, 5,04 mol) a una solución de 2-bromo-5-fluoropiridin-3-ol (745 g, 3,88 mol) en *N,N*-dimetilformamida (4 l), luego de lo cual el recipiente de reacción se evacuó y se cargó con nitrógeno. Este ciclo de evacuación se repitió dos veces, y la mezcla de reacción luego se calentó hasta 35 °C. Se agregó yodoetano (372 ml, 4,65 mol) por goteo durante 30 minutos, y después de agitar la mezcla de reacción a 35 °C durante 16 horas, se enfrió hasta 25 °C y se diluyó con agua (6 l). La agitación continuó durante 15 minutos a 25 °C; los sólidos resultantes se recolectaron mediante filtración, y el filtrado se extrajo con *ter*-butil metil éter (3 x 1,5 l). Las capas orgánicas combinadas se secaron en sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se combinó con el sólido obtenido de la primera filtración, para obtener **C5** como un sólido marrón. Rendimiento: 756 g, 3,44 mol, 89 %. ¹H RMN (400 MHz, cloroformo-*d*) δ 7,88 (d, *J* = 2,5 Hz, 1H), 6,90 (dd, *J* = 9,5, 2,5 Hz, 1H), 4,10 (q, *J* = 7,0 Hz, 2H), 1,51 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H).

Etapla 2. Síntesis de 5-[(3-etoxi-5-fluoropiridin-2-il)oxi]piridin-3-carbonitrilo (C6).

Esta reacción se llevó a cabo en cuatro lotes paralelos: Se agregaron 5-hidroxipiridin-3-carbonitrilo (112,6 g, 937,5 mmol) y carbonato de cesio (389 g, 1,19 mol) en una porción a una solución de **C5** (187,5 g, 852,1 mmol) en 1,4-dioxano (2,5 l). El recipiente de reacción se evacuó y se cargó con nitrógeno. Este ciclo de evacuación se repitió dos veces, luego de lo cual se agregaron acetato de paladio(II) (9,57 g, 42,6 mmol) y 1,1'-bis(di-*ter*-butilfosfino)ferroceno (20,2 g, 42,6 mmol) en la mezcla de reacción. Los ciclos de evacuación-nitrógeno se repitieron como se indicó anteriormente, y la mezcla de reacción luego se agitó a 85 °C durante 16 horas. Cualquier reacción que no se completó después de 16 horas se trató con acetato de paladio(II) adicional (9,57 g, 42,6 mmol) y 1,1'-bis(di-*ter*-butilfosfino)ferroceno (20,2 g, 42,6 mmol) y se agitó a 85 °C durante 16 horas adicionales. En ese momento, las cuatro mezclas de reacción se combinaron y se filtraron; el filtrado se concentró al vacío, y el residuo se disolvió en acetato de etilo (3 l), y luego se diluyó con agua (6 l). La mezcla resultante se agitó a 25 °C durante 15 minutos, luego de lo cual las capas se separaron, y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 1 l). Después de lavar las capas orgánicas combinadas con solución acuosa saturada de cloruro de sodio (2 x 3 l), se secaron en sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se agitó en una mezcla de *ter*-butil metil éter (1 l) y éter de petróleo (2 l) a 25 °C durante 20 minutos, y el sólido resultante se recolectó mediante filtración para obtener **C6** (813 g) como un sólido. El filtrado se concentró al vacío y se sometió a cromatografía en gel de

sílice (gradiente: de 0 % a 30 % de acetato de etilo en éter de petróleo) para proporcionar **C6** adicional (52 g) como un sólido marrón. Rendimiento combinado: 865 g, 3,34 mol, 98 %. LCMS m/z 259,8 $[M+H]^+$. 1H RMN (400 MHz, cloroformo- d) δ 8,73 – 8,64 (m, 2H), 7,77 (br s, 1H), 7,56 (d, J = 2,5 Hz, 1H), 7,06 (dd, J = 9,0, 2,5 Hz, 1H), 4,14 (q, J = 7,0 Hz, 2H), 1,50 (t, J = 7,0 Hz, 3H).

Etapas 3. Síntesis de 5-[(3-etoxi-5-fluoropiridin-2-il)oxi]piridin-3-carboximidamida, sal de clorhidrato (C7).

Una solución de **C6** (919 g, 3,54 mol) en acetato de etilo (3 l) se trató con carbón activado (aproximadamente 200 g), y luego se agitó a 77 °C durante 3 horas. Después de filtrar la mezcla resultante, el filtrado se concentró al vacío para proporcionar **C6** (894 g, 3,45 mol). Luego, se llevó a cabo la siguiente reacción en tres lotes paralelos: Se agregó metóxido de sodio (12,4 g, 230 mmol) a una solución a 0 °C de **C6** (298 g, 1,15 mol) en metanol (2 l). La mezcla de reacción se calentó hasta 25 °C y luego se agitó a 25 °C durante 20 horas antes de enfriarse hasta -40 °C y se trató con cloruro de amonio (67,6 g, 1,26 mol). En ese momento, la mezcla de reacción se calentó hasta 25 °C y se agitó a 25 °C durante 40 horas, luego de lo cual los tres lotes se combinaron y se concentraron al vacío, para obtener **C7** como una goma marrón (1,15 kg). Este material se usó directamente en la siguiente etapa. LCMS m/z 276,8 $[M+H]^+$.

Etapas 4. Síntesis de metil 2-{5-[(3-etoxi-5-fluoropiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}pirimidin-5-carboxilato (C8).

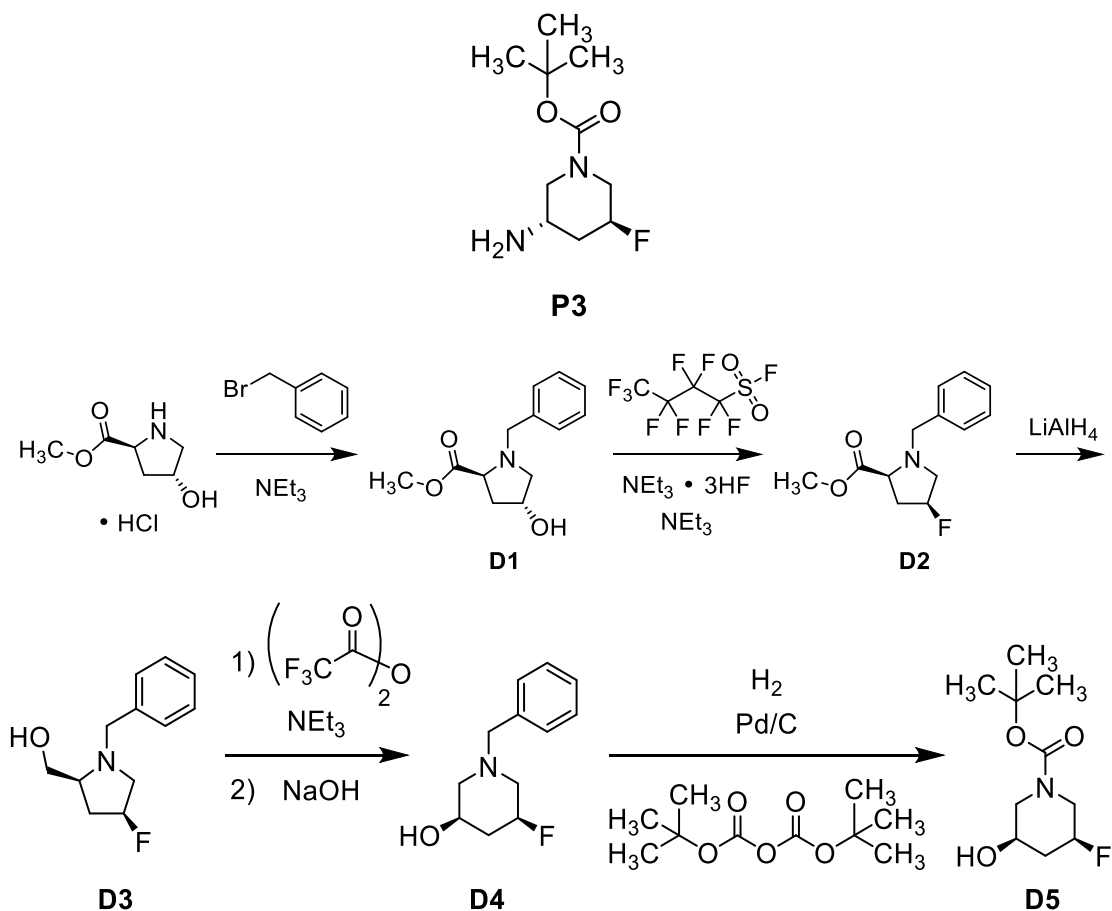
Esta reacción se llevó a cabo en tres lotes paralelos. Se agregó 2-(dimetoximetil)-3-metoxi-3-oxoprop-1-en-1-olato de sodio (357 g, 1,80 mol) en una porción a una solución a 25 °C de **C7** (de la etapa anterior; 383 g, $\leq$ 1,15 mol) en metanol (2,5 l). Después de agitar a 25 °C durante 16 horas, dos de las tres reacciones se completaron, según se evaluó mediante el análisis de LCMS. La tercera reacción (incompleta) se trató con 2-(dimetoximetil)-3-metoxi-3-oxoprop-1-en-1-olato de sodio adicional (54,9 g, 277 mmol), y se continuó con la agitación a 25 °C durante 6 horas. En ese momento, se combinaron los tres lotes, se diluyeron con agua (8 l) y se filtraron. Después de lavar la torta de filtro con agua (2 x 2 l), se agitó en una mezcla de metanol (1 l) y *ter*-butil metil éter (1 l) durante 3 horas a 25 °C, luego de lo cual la suspensión se filtró para proporcionar **C8** como un sólido marrón. Rendimiento: 1,0 kg, 2,7 mol, 78 % en 2 etapas. LCMS m/z 370,8 $[M+H]^+$. 1H RMN (400 MHz, cloroformo- d) δ 9,54 (d, J = 1,8 Hz, 1H), 9,32 (s, 2H), 8,63 (d, J = 2,7 Hz, 1H), 8,55 (dd, J = 2,7, 1,8 Hz, 1H), 7,57 (d, J = 2,5 Hz, 1H), 7,05 (dd, J = 9,2, 2,5 Hz, 1H), 4,16 (q, J = 7,0 Hz, 2H), 4,00 (s, 3H), 1,51 (t, J = 7,0 Hz, 3H).

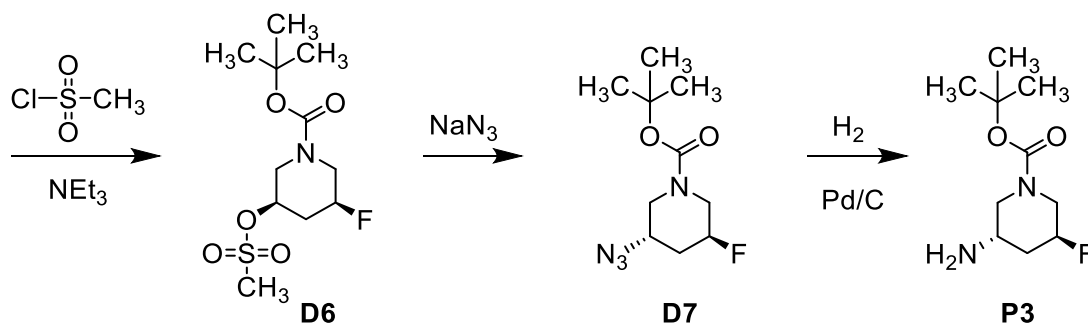
Etapas 5. Síntesis de ácido 2-{5-[(3-etoxi-5-fluoropiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}pirimidin-5-carboxílico (P2).

Una suspensión de **C8** (500 g, 1,35 mol) en metanol (2 l) se trató por goteo con solución de hidróxido de sodio (2 M; 1,01 l, 2,02 mol). Después de completar la adición, la mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 16 horas, luego de lo cual se diluyó con agua (2 l). El pH luego se ajustó hasta 3 a 4 mediante adición por goteo de ácido clorhídrico (1 M; aproximadamente 1,5 l); la mezcla resultante se agitó a 25 °C durante 1 hora, y el sólido se recolectó mediante filtración. La torta de filtro se lavó con agua (2 x 1 l) para obtener **P2** como un sólido blancuzco. Rendimiento: 405 g, 1,14 mol, 84 %. LCMS m/z 356,8 $[M+H]^+$. 1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9,39 (d, J = 1,7 Hz, 1H), 9,31 (s, 2H), 8,65 (d, J = 2,7 Hz, 1H), 8,37 – 8,34 (m, 1H), 7,71 (d, componente de cuarteto AB, J = 2,6 Hz, 1H), 7,68 (dd, componente de sistema ABX, J = 9,8, 2,6 Hz, 1H), 4,19 (q, J = 7,0 Hz, 2H), 1,36 (t, J = 7,0 Hz, 3H).

Preparación P3

Ter-butil (3S,5S)-3-amino-5-fluoropiperidin-1-carboxilato (P3)





Esta secuencia entera se llevó a cabo a gran escala. En general, antes de las reacciones, así como también después de la adición de reactivos, los reactores se evacuaron a $\leq -0,07$ MPa y luego se llenaron con nitrógeno a presión normal. Este proceso se repitió en general 3 veces, y luego se evaluó el oxígeno para asegurarse de que fuera $\leq 1,0$ %. Para los procesos de inactivación, extracción y lavado de capas orgánicas, las mezclas generalmente se agitaron durante 15 a 60 minutos y luego se dejaron reposar durante 15 a 60 minutos antes de la separación de capas.

Etapa 1. Síntesis de metil (2S,4R)-1-bencil-4-hidroxipirrolidin-2-carboxilato (D1).

Se cargó trietilamina (93,55 kg, 924,5 mol) en una mezcla de 15 °C a 25 °C de diclorometano (968 kg) y metil (2S,4R)-4-hidroxipirrolidin-2-carboxilato, sal de clorhidrato (56,05 kg, 308,6 mol) a una velocidad de referencia de 80 a 120 kg/hora. Después de agitar la mezcla durante 10 a 20 minutos, se agregó bromuro de bencilo (79,00 kg, 461,9 mol) a una velocidad de referencia de 20 a 30 kg/hora. La mezcla de reacción se agitó de 15 °C a 25 °C; después de 12 horas, se obtuvieron muestras cada 2 a 6 horas para análisis mediante HPLC, hasta que el porcentaje de área del material de inicio fue de menos de 2 % (condiciones de HPLC: Columna: Waters XBridge BEH C18, 4,6 x 150 mm, 3,5 μm ; fase móvil A: agua que contenía 0,1 % de ácido heptafluorobutírico; fase móvil B: acetonitrilo; gradiente: 10 % de B durante 3 minutos, luego 10 % a 40 % de B durante 10 minutos, luego 40 % a 90 % de B durante 5 minutos; velocidad de flujo: 1,0 ml/minuto). Tiempo de retención típico de metil (2S,4R)-4-hidroxipirrolidin-2-carboxilato: 3,8 minutos.

Luego se agregó agua (280 kg) al reactor a una velocidad de referencia de 100 a 150 kg/hora y 15 °C a 25 °C. La capa acuosa se extrajo una vez con diclorometano (372 kg, 281 l, 5 volúmenes); la capas orgánicas combinadas se lavaron con una solución de cloruro de sodio (93,0 kg) en agua (280 kg) y luego se concentraron a $-0,08$ MPa a un volumen de 100 a 150 l mientras la temperatura se mantuvo por debajo de 35 °C. Se cargó tetrahidrofurano (497 kg) en la mezcla resultante en dos porciones. La mezcla se concentró nuevamente a $-0,08$ MPa a un volumen de 100 a 150 l, mientras

la temperatura se mantuvo por debajo de 35 °C. Se llevó a cabo análisis de Karl Fischer y se obtuvieron muestras de diclorometano residual para asegurarse de que el contenido de agua fuera $\leq 0,30$ % y el diclorometano residual fuera ≤ 4 %. La solución resultante se ajustó hasta 15 °C a 30 °C, para obtener una solución amarilla que contenía **D1**. Rendimiento: 136,8 kg de solución, que contenía **D1** (69,14 kg, 293,9 mol, 95 %). Pureza según HPLC: 90 % (condiciones de HPLC: Columna: Waters XBridge BEH C18, 4,6 x 150 mm, 3,5 μ m; fase móvil A: 10 mM de acetato de amonio en agua; fase móvil B: acetonitrilo; gradiente: 20 % a 95 % de B durante 10 minutos; velocidad de flujo: 1,0 ml/minuto). Tiempo de retención de **D1**: 4,72 minutos. ^1H RMN (401 MHz, cloroformo-*d*) δ 7,34 – 7,21 (m, 5H), 4,48 – 4,39 (m, 1H), 3,90 (d, J = 12,9 Hz, 1H), 3,65 (d, J = 12,9 Hz, 1H), 3,65 (s, 3H), 3,59 (dd, J = 7,9, 7,8 Hz, 1H), 3,32 (dd, J = 10,1, 5,7 Hz, 1H), 2,57 (br s, 1H), 2,45 (dd, J = 10,2, 4,1 Hz, 1H), 2,24 (ddd, J = 13,2, 7,7, 6,9 Hz, 1H), 2,07 (ddd, J = 13,3, 8,0, 3,2 Hz, 1H).

Etapas 2. Síntesis de metil (2S,4S)-1-bencil-4-fluoropirrolidin-2-carboxilato (D2).

Una solución de **D1** en tetrahidrofurano (128,4 kg, que contenía 64,90 kg, 275,8 mol de **D1**) se agregó a un reactor que contenía tetrahidrofurano (575 kg) de 15 °C a 25 °C. Luego se agregó trietilamina (114,2 kg, 1129 mol) a una velocidad de adición de referencia de 35 a 45 kg/hora. Se cargó trietilamina trihidrofluoruro (66,70 kg, 413,7 mol) en la mezcla, y luego nonafluorobutan-1-sulfonil fluoruro (128,0 kg, 423,7 mol) a una velocidad de referencia de 60 a 80 kg/hora, y la reacción procedió de 15 °C a 25 °C. Después de 4 horas, se obtuvieron muestras de la mezcla de reacción cada 2 a 6 horas para análisis mediante HPLC, hasta que el porcentaje de área de **D1** fuera menos de 1 % (condiciones de HPLC: Columna: Waters XBridge C18, 4,6 x 150 mm, 3,5 μ m; fase móvil A: 10 mM de acetato de amonio en agua; fase móvil B: acetonitrilo; gradiente: 20 % a 95 % de B durante 10 minutos; velocidad de flujo: 1,0 ml/minuto). Tiempo de retención típico de **D1**: 5,0 minutos.

La mezcla luego se enfrió hasta 10 °C a 15 °C, y se agregó agua (325 kg) a una velocidad de referencia de 100 a 120 kg/hora, y luego *ter*-butil metil éter (240,5 kg) de 15 °C a 25 °C. La fase orgánica se lavó dos veces con una solución de bicarbonato de sodio (18,2 kg, 217 mol) en agua (198 kg), y luego se lavó dos veces con una solución de cloruro de sodio (47,2 kg) en agua (130 kg). Luego se concentró a $\leq -0,08$ MPa a un volumen de 150 a 200 l mientras la temperatura se mantuvo por debajo de 45 °C. Después de ajustar la mezcla resultante a 20 °C a 30 °C, se agregaron *ter*-butil metil éter (123 kg, 166 l, 2,5 volúmenes) y *n*-heptano (112 kg, 163 l, 2,5 volúmenes). La mezcla resultante se filtró a través de columna de gel de sílice (112 kg de gel de sílice),

hasta que se filtró prácticamente todo el material. El reactor luego se enjuagó con *ter*-butil metil éter (481 kg, 10 volúmenes) y *n*-heptano (444 kg, 10 volúmenes) de 20 °C a 30 °C, y este licor de enjuague también se filtró a través de la columna de gel de sílice. Los filtrados combinados se eluyeron a través de una columna fresca que contenía gel de sílice (40 kg), y el eluyente se concentró a $\leq -0,08$ MPa hasta un volumen de 80 a 100 l, mientras la temperatura se mantuvo por debajo de 45 °C. La solución resultante se ajustó hasta 20 °C a 30 °C, para obtener una solución amarilla que contenía **D2**. Rendimiento: 104,3 kg de solución, que contenía **D2** (52,64 kg, 221,8 mol, 80 %). Pureza según HPLC: 83 % (condiciones de HPLC: Columna: Waters XBridge BEH C18, 4,6 x 150 mm, 3,5 μ m; fase móvil A: 10 mM de acetato de amonio en agua; fase móvil B: acetonitrilo; gradiente: 20 % a 95 % de B durante 10 minutos; velocidad de flujo: 1,0 ml/minuto). Tiempo de retención para **D2**: 7,34 minutos. ^1H RMN (401 MHz, cloroformo-*d*) δ 7,37 – 7,22 (m, 5H), 5,10 (br ddd, $J = 54,8, 5, 5$ Hz, 1H), 4,03 (d, $J = 13,0$ Hz, 1H), 3,70 (s, 3H), 3,59 (d, $J = 13,0$ Hz, 1H), 3,34 – 3,21 (m, 2H), 2,65 – 2,42 (m, 2H), 2,29 (br ddd, $J = 29,8, 14,8, 6,3$ Hz, 1H).

Etapa 3. Síntesis de [(2S,4S)-1-bencil-4-fluoropirrolidin-2-il]metanol (D3).

Se agregó tetrahidrofurano (352 kg) a hidruro de litio y aluminio (8,20 kg, 216 mol) de 15 °C a 25 °C, en nitrógeno. Después de completar la adición, la mezcla se agitó durante 10 a 15 minutos, y se burbujeó nitrógeno hacia adentro del puerto inferior del reactor durante 3 a 5 minutos. La mezcla se ajustó hasta 8 °C a 15 °C, y luego una solución de **D2** en tetrahidrofurano (99,10 kg, que contenía 50,02 kg, 210,8 mol de **D2**) se agregó por porciones a una velocidad de referencia de 35 a 45 kg/hora a 8 °C a 15 °C. Después de agregar un tercio del sustrato, la mezcla de reacción se agitó durante 0,5 a 1 hora, y luego se obtuvieron muestras para análisis. No se agregó material adicional hasta que quedó ≤ 10 % de la carga de **D2**. Una vez completa la adición de **D2** total, la reacción procedió de 8 °C a 15 °C; después de 1 hora, se obtuvieron muestras para análisis de HPLC cada 1 a 3 horas hasta observar ≤ 2 % de **D2** (condiciones de HPLC: Columna: Waters XBridge BEH C18, 4,6 x 150 mm, 3,5 μ m; fase móvil A: 10 mM de acetato de amonio en agua; fase móvil B: acetonitrilo; gradiente: 20 % a 95 % de B durante 10 minutos; velocidad de flujo: 1,0 ml/minuto). Tiempo de retención típico para **D2**: 7,5 minutos.

La reacción luego se inactivó por medio de adición de una mezcla de agua (8,00 kg) y tetrahidrofurano (44,5 kg); esta se agregó de 0 °C a 20 °C a una velocidad de referencia de 6 a 8 kg/hora. Una solución de hidróxido de sodio (1,40 kg, 35 mol) en agua (30,0 kg) luego se cargó en la mezcla de 10 °C a 25 °C, a una velocidad de

referencia de 10 a 20 kg/hora. Después de esta adición, la mezcla se agitó durante 0,5 a 1 hora. Luego se burbujeó nitrógeno en la mezcla del puerto inferior del reactor durante 4 a 6 horas de 15 °C a 25 °C. La mezcla se filtró, y los sólidos recolectados se agitaron con tetrahidrofurano (317 kg) de 15 °C a 25 °C durante 1 a 2 horas; esta mezcla luego se filtró. Los filtrados combinados se concentraron de 1 a 1,2 volúmenes, a $\leq -0,08$ MPa, mientras la temperatura se mantuvo por debajo de 45 °C. Se cargó 2-metiltetrahidrofurano (388 kg) en la mezcla en porciones, mientras la temperatura se mantuvo por debajo de 45 °C. Después de cada adición, la mezcla se agitó durante 5 a 10 minutos, y luego se concentró como se indicó anteriormente de 1 a 1,2 volúmenes. El muestreo se llevó a cabo para asegurarse de que el tetrahidrofurano residual fuera ≤ 2 %, y el contenido de agua (según análisis de Karl Fischer) fuera $\leq 0,1$ %. La mezcla resultante se ajustó hasta 15 °C a 25 °C y se trató con 2-metiltetrahidrofurano (43,0 kg); la agitación proporcionó una solución amarilla que contenía **D3**. Rendimiento: 102,7 kg de solución, que contenía **D3** (41,05 kg, 196,2 mmol, 93 %). Pureza según HPLC: 90 % (condiciones de HPLC: Columna: Waters XBridge BEH C18, 4,6 x 150 mm, 3,5 μ m; fase móvil A: 10 mM de acetato de amonio en agua; fase móvil B: acetonitrilo; gradiente: 20 % a 95 % de B durante 10 minutos; velocidad de flujo: 1,0 ml/minuto). Tiempo de retención para **D3**: 5,38 minutos. ¹H RMN (401 MHz, cloroformo-*d*), picos característicos: δ 7,37 – 7,23 (m, 5H), 5,05 (br ddd, *J* = 54,5, 4,7, 4,5 Hz, 1H), 4,04 (d, *J* = 13,3 Hz, 1H), 3,54 – 3,45 (m, 1H), 3,33 (d, *J* = 13,3 Hz, 1H), 3,23 (br dd, *J* = 18,5, 11,7 Hz, 1H), 2,83 – 2,75 (m, 1H), 2,63 (br d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 2,49 – 2,10 (m, 3H).

Etapa 4. Síntesis de (3R,5S)-1-bencil-5-fluoropiperidin-3-ol (D4).

Una solución de **D3** en 2-metiltetrahidrofurano (102,6 kg, que contenía 41,03 kg, 196,1 mol de **D3**) se agregó a 2-metiltetrahidrofurano (160 kg) de 15 °C a 25 °C. El anhídrido trifluoroacético (42,20 kg, 200,9 mol) luego se agregó a una velocidad de referencia de 35 a 45 kg/hora, y luego trietilamina (61,1 kg, 604 mol) a una velocidad de referencia de 35 a 45 kg/hora. La mezcla de reacción se mantuvo de 15 °C a 25 °C durante 1 hora, luego se calentó hasta 77 °C a 82 °C. Después de 12 horas, se obtuvieron muestras de la reacción cada 1 a 12 horas para análisis de HPLC, hasta que el porcentaje de área de **D3** fuera ≤ 3 % (condiciones de HPLC: Columna: Waters XBridge BEH C18, 4,6 x 150 mm, 3,5 μ m; fase móvil A: 10 mM de acetato de amonio en agua; fase móvil B: acetonitrilo; gradiente: 20 % a 95 % de B durante 10 minutos; velocidad de flujo: 1,0 ml/minuto). Tiempo de retención típico para **D3**: 5,8 minutos.

En ese momento, la mezcla de reacción se enfrió hasta 10 °C a 20 °C y se trató con una solución de hidróxido de sodio (3,30 kg, 82 mol) en agua (41,1 kg) a una

velocidad de referencia de 34 a 45 kg/hora, mientras la temperatura se mantuvo de 10 °C a 30 °C. Después de completar la adición, la mezcla se agitó durante 1 hora, luego de lo cual se lavó con una solución de cloruro de sodio (23,1 kg) en agua (82,2 kg) de 15 °C a 30 °C. La capa acuosa se extrajo una vez con *ter*-butil metil éter (150 kg, 203 l, 5 volúmenes) de 15 °C a 30 °C, y las capas orgánicas combinadas se concentraron a $\leq -0,08$ MPa de 1 a 1,2 volúmenes, mientras la temperatura se mantuvo por debajo de 45 °C. La mezcla se lavó dos veces con agua (162 kg) de 15 °C a 30 °C, y se obtuvieron muestras de la fase orgánica para trietilamina para asegurarse de que el nivel de trietilamina fuera de ≤ 3 %. Luego se concentró a $\leq -0,08$ MPa a un volumen de 1 a 1,2 volúmenes, mientras la temperatura se mantuvo por debajo de 45 °C. Se agregó tetrahidrofurano (110 kg), y la mezcla resultante se concentró nuevamente a $\leq -0,08$ MPa a un volumen de 1 a 1,2 volúmenes, mientras la temperatura se mantuvo por debajo de 45 °C. El material resultante se enfrió hasta 20 °C a 30 °C, para obtener una solución marrón oscura que contenía **D4**. Rendimiento: 153,5 kg de solución, que contenía **D4** (36,50 kg, 174,4 mmol, 89 %). Pureza según HPLC: 85 % (condiciones de HPLC: Columna: Waters XBridge BEH C18, 4,6 x 150 mm, 3,5 μ m; fase móvil A: 10 mM de acetato de amonio en agua; fase móvil B: acetonitrilo; gradiente: 20 % a 95 % de B durante 10 minutos; velocidad de flujo: 1,0 ml/minuto). Tiempo de retención para **D4**: 5,88 minutos. ^1H RMN (401 MHz, cloroformo-*d*) δ 7,36 – 7,23 (m, 5H), 4,84 – 4,66 (m, 1H), 3,90 – 3,81 (m, 1H), 3,62 – 3,59 (m, 2H), 2,92 – 2,76 (m, 2H), 2,69 (dd, $J = 11,5$, 5,0 Hz, 1H), 2,54 – 2,39 (m, 2H), 2,10 – 1,98 (m, 1H), 1,95 – 1,78 (m, 1H).

Etapas 5. Síntesis de ter-butil (3S,5R)-3-fluoro-5-hidroxipiperidin-1-carboxilato (D5).

Una mezcla de **D4** en tetrahidrofurano (que contenía 30,03 kg, 143,5 mol de **D4**), tetrahidrofurano (218 kg) y di-*ter*-butil dicarbonato (47,10 kg, 215,8 mol), de 15 °C a 30 °C, se purgó con nitrógeno a través de un tubo subsuperficial de 0,2 a 0,3 MPa, luego se ventiló de 0,02 a 0,05 MPa. Este procedimiento de purga y ventilación se repitió entre 5 y 8 veces. Se cargó paladio sobre carbón (10 %, 3,00 kg) en el reactor de 15 °C a 30 °C, y luego el embudo de adición de sólidos se enjuagó con agua (0,26 kg). La mezcla de reacción se purgó con nitrógeno a través de un tubo subsuperficial de 0,1 a 0,2 MPa, luego se ventiló de 0,02 a 0,05 MPa de 15 °C a 30 °C; este procedimiento de purga y ventilación se repitió entre 5 y 8 veces. Un protocolo idéntico de purga-ventilación se llevó a cabo luego con el uso de hidrógeno. Después del intercambio final de hidrógeno, la presión aumentó de 0,1 a 0,2 MPa con hidrógeno. La mezcla de reacción luego se intercambió con nitrógeno dos veces cada 1 a 3 horas, se purgó con hidrógeno a través de un tubo subsuperficial de 0,1 a 0,2 MPa, y luego se ventiló de 0,02 a 0,05 MPa. Luego

del intercambio, la presión de hidrógeno aumentó de 0,1 a 0,2 MPa, y la mezcla de reacción se mantuvo de 20 °C a 30 °C. Después de 8 horas, se obtuvieron muestras de la reacción para análisis de HPLC cada 1 a 12 horas, hasta que el nivel de **D4** fue $\leq 1,0$ % (condiciones de HPLC: Columna: Waters XSelect Phenyl-Hexyl, 4,6 x 150 mm, 3,5 μ m; fase móvil A: agua que contenía 0,1 % de ácido trifluoroacético; fase móvil B: acetonitrilo que contenía 0,1 % de ácido trifluoroacético; gradiente: 5 % a 35 % de B durante 15 minutos; velocidad de flujo: 1,0 ml/minuto).

La mezcla se purgó luego con nitrógeno a través de un tubo subsuperficial de 0,1 a 0,3 MPa, luego se ventiló de 0,02 a 0,05 MPa de 15 °C a 30 °C; este ciclo se repitió no menos de 9 veces. La mezcla de reacción se hizo pasar a través de un filtro Nutsche de acero inoxidable de 20 °C a 30 °C, y la torta de filtro se enjuagó con tetrahidrofurano (26,6 kg, 29,9 l, 1 volumen); los filtrados combinados se hicieron pasar a través de un filtro cargado con gel de sílice (15,1 kg), y la torta de filtro de sílice se enjuagó con tetrahidrofurano (52,7 kg, 59,3 l, 2 volúmenes). Estos filtrados combinados se hicieron pasar a través de un filtro en línea de 15 °C a 30 °C y se concentraron a $\leq -0,08$ MPa a un volumen de 1,1 a 1,4 volúmenes, mientras la temperatura se mantuvo por debajo de 45 °C. La mezcla resultante se trató con *n*-heptano (102 kg) de 15 °C a 45 °C y se agitó durante 10 minutos, luego de lo cual se obtuvieron muestras de la mezcla para asegurarse de que el tetrahidrofurano residual fuera de <8 %. Se agregaron tetrahidrofurano (6,90 kg) y *n*-heptano (101 kg) de 15 °C a 45 °C, y la mezcla se calentó hasta 50 °C a 55 °C, luego se enfrió hasta 18 °C a 25 °C y se agitó durante 1 hora. Los cristales de siembra de **D5** (0,06 kg; ver el origen a continuación) se cargaron en la mezcla, que luego se agitó de 1 a 2 horas mientras la temperatura se mantuvo de 18 °C a 25 °C. Se continuó agitando de 15 °C a 20 °C de 8 a 12 horas para cristalización. Se burbujeó nitrógeno desde el puerto inferior del reactor cada 2 a 3 horas para efectuar la concentración. La mezcla se filtró luego, con el uso de un filtro Nutsche de acero inoxidable; la torta de filtro se enjuagó con una mezcla de *n*-heptano (20,4 kg) y tetrahidrofurano (0,81 kg) y luego se secó de 20 °C a 30 °C hasta que el muestreo indicó tetrahidrofurano residual de ≤ 720 ppm y *n*-heptano residual de ≤ 5000 ppm. El producto **D5** se obtuvo como un sólido blancuzco. Rendimiento: 12,15 kg, 97,5 % mediante ensayo; peso corregido: 11,84 kg, 54,00 mol. Material adicional de la recuperación del licor madre: 5,17 kg, 23,6 mmol. Rendimiento combinado: 54 %. Pureza según HPLC: 94 % (condiciones de HPLC: Columna: Waters XSelect Phenyl-Hexyl, 4,6 x 150 mm, 3,5 μ m; fase móvil A: agua que contenía 0,1 % de ácido trifluoroacético; fase móvil B: acetonitrilo que contenía 0,1 % de ácido trifluoroacético; gradiente: 5 % a 35 % de B

durante 15 minutos; velocidad de flujo: 1,0 ml/minuto). Tiempo de retención para **D5**: 12,58 minutos. ¹H RMN (401 MHz, cloroformo-*d*) δ 4,69 (br d, *J*_{HF} = 47,2 Hz, 1H), 3,86 – 3,76 (m, 1H), 3,62 – 3,35 (m, 3H), 2,64 – 2,44 (m, 1H), 2,18 – 1,92 (m, 2H), 1,46 (s, 9H).

Preparación de cristales de siembra de **D5**: Una reacción de hidrogenación a menor escala de **D4** se llevó a cabo como se describió anteriormente; después de la remoción del paladio sobre carbón, la solución resultante de **D5** en tetrahidrofurano se concentró en aproximadamente 1 a 1,2 volúmenes (en función de la cantidad de **D4** usado). La mezcla resultante se trató con tetrahidrofurano (0,2 volúmenes) y *n*-heptano (15 volúmenes), se calentó hasta 50 °C a 55 °C, y luego se enfrió hasta 15 °C a 20 °C. Luego, la suspensión se agitó durante 6 a 8 horas, se filtró para obtener **D5** como un sólido; este material se usó como los cristales de siembra.

Etapas 6. Síntesis de ter-butil (3S,5R)-3-fluoro-5-[(metilsulfonil)oxi]piperidin-1-carboxilato (D6).

Se cargó diclorometano (229 kg) en un reactor de 15 °C a 25 °C, y luego **D5** (17,40 kg; corregido de los resultados de ensayos: 16,96 kg, 77,35 mol); luego se burbujó nitrógeno desde el puerto inferior. Se agregó trietilamina (9,80 kg, 96,8 mol) de 15 °C a 25 °C, luego de lo cual la mezcla de reacción se enfrió hasta 0 °C a 5 °C. Mientras la mezcla se mantuvo de 0 °C a 10 °C, se agregó cloruro de metansulfonilo (10,18 kg, 88,88 mol), y la reacción procedió de 0 °C a 10 °C. Después de 1 hora, se obtuvieron muestras cada 1 a 3 horas hasta que el porcentaje de área de **D5** fuera de menos de 1 % (condiciones de HPLC: Columna: Waters XBridge BEH C18, 4,6 x 150 mm, 3,5 µm; fase móvil A: 10 mM de acetato de amonio en agua; fase móvil B: acetonitrilo; gradiente: 30 % a 95 % de B durante 10 minutos; velocidad de flujo: 1,0 ml/minuto). Tiempo de retención típico para **D5**: 4,31 minutos.

En ese punto, se cargó agua (52,0 kg) en la mezcla de 0 °C a 5 °C, a una velocidad de referencia de 20 a 38 kg/hora. La fase acuosa de la mezcla resultante se extrajo con diclorometano (70,4 kg, 53,1 l, 3 volúmenes) de 0 °C a 10 °C, y las capas orgánicas combinadas se lavaron con una solución de cloruro de sodio (4,30 kg) en agua (17,4 kg) de 0 °C a 15 °C, y posteriormente se concentraron de ≤ -0,09 MPa a 2 a 3 volúmenes mientras la temperatura se mantuvo por debajo de 30 °C. El residuo se diluyó con *ter*-butil metil éter (128 kg) en porciones de 0 °C a 30 °C, y luego la mezcla se concentró de ≤ -0,09 MPa a 2 a 3 volúmenes mientras la temperatura se mantuvo por debajo de 30 °C. Luego se volvió a cargar *ter*-butil metil éter (65,0 kg) en la mezcla en porciones de 0 °C a 30 °C, y la mezcla se volvió a concentrar de ≤ -0,09 MPa a 2 a 3 volúmenes mientras la temperatura se mantuvo por debajo de 30 °C. Este protocolo

se repitió hasta que el análisis de diclorometano proporcionó un nivel de diclorometano residual de ≤ 2 %. La mezcla se calentó luego hasta 35 °C a 40 °C, y se agregó *n*-heptano (116 kg) a una velocidad de referencia de 40 a 60 kg/hora, luego de lo cual la mezcla se enfrió lentamente hasta 0 °C a 10 °C a una velocidad de referencia de 10 °C a 15 °C/hora. Luego se agitó de 0 °C a 10 °C durante 2 horas. La filtración proporcionó una torta de filtro, que se enjuagó con *n*-heptano (22,5 kg), y luego se secó de 35 °C a 40 °C en un flujo de nitrógeno. El sólido resultante se mezcló con *ter*-butil metil éter (59,4 kg) de 15 °C a 30 °C, y luego se calentó hasta 35 °C a 40 °C. Se agregó *n*-heptano (119 kg) de 35 °C a 40 °C, a una velocidad de referencia de 40 a 60 kg/hora, y la mezcla resultante se enfrió lentamente hasta 0 °C a 10 °C, a una velocidad de referencia de 10 °C a 15 °C/hora. Después de que la mezcla se agitó de 0 °C a 10 °C durante 2 horas, esta se filtró, y la torta de filtro se enjuagó con *n*-heptano (23,6 kg). El sólido recolectado se secó de 35 °C a 40 °C hasta que el *ter*-butil metil éter residual fue de ≤ 5000 ppm, el *n*-heptano residual fue de ≤ 5000 ppm, y el análisis de Karl Fischer reveló contenido de agua de $\leq 0,1$ %. El material resultante se enfrió hasta 15 °C a 30 °C, para obtener **D6** como un sólido blanco. Rendimiento: 19,35 kg, 98,3 % mediante ensayo; peso corregido: 19,02 kg, 63,97 mol, 83 %. Pureza según HPLC: 99 % (condiciones de HPLC: Columna: Waters XBridge BEH C18, 4,6 x 150 mm, 3,5 μ m; fase móvil A: 10 mM de acetato de amonio en agua; fase móvil B: acetonitrilo; gradiente: 30 % a 95 % de B durante 10 minutos; velocidad de flujo: 1,0 ml/minuto). Tiempo de retención para **D6**: 4,98 minutos. ^1H RMN (401 MHz, cloroformo-*d*) δ 4,79 – 4,52 (m, 2H), 3,72 – 3,53 (m, 4H), 3,06 (s, 3H), 2,36 – 2,11 (m, 2H), 1,46 (s, 9H).

Etapa 7. Síntesis de ter-butil (3S,5S)-3-azido-5-fluoropiperidin-1-carboxilato (D7).

Se cargaron *N,N*-dimetilformamida (174 kg) y **D6** (18,45 kg; corregido para ensayo 18,14 kg, 61,01 mol) en un reactor y se agitaron de 15 °C a 30 °C hasta obtener una solución, luego de lo cual se agregó azida de sodio (6,05 kg, 93,1 mol) de 15 °C a 30 °C. La mezcla de reacción se calentó hasta 78 °C a 88 °C, a una velocidad de referencia de 20 °C a 35 °C/hora, y luego reaccionó de 78 °C a 88 °C. Después de 6 a 12 horas, se obtuvieron muestras de la mezcla de reacción cada 2 a 8 horas para el análisis de HPLC, hasta que el porcentaje de área de **D6** fuera de menos de 0,5 % (condiciones de HPLC: Columna: Waters XBridge BEH C18, 4,6 x 150 mm, 3,5 μ m; fase móvil A: agua que contenía 0,1 % de acetato de amonio; fase móvil B: acetonitrilo; gradiente: 20 % a 95 % de B durante 10 minutos; velocidad de flujo: 1,0 ml/minuto). Tiempo de retención típico para **D6**: 6,4 minutos.

Después de que la mezcla se enfrió hasta 10 °C a 20 °C, se agregaron *ter*-butil metil éter (68,7 kg) y agua (185 kg), a una velocidad de referencia de 35 a 85 kg/hora, y se continuó agitando durante 10 a 20 minutos. La mezcla se filtró, y la capa acuosa del filtrado se extrajo con *ter*-butil metil éter (2 x 69 kg, 93 l, 5 volúmenes). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (2 x 56 kg, 56 l, 3 volúmenes) para obtener **D7** como una solución amarilla clara en *ter*-butil metil éter. Rendimiento: 185,4 kg; solución en *ter*-butil metil éter, que se asumió que contenía 14,90 kg, 61,01 mol de **D7**, 100 %. Pureza según HPLC: 80 % (condiciones de HPLC: Columna: Waters XBridge BEH C18, 4,6 x 150 mm, 3,5 µm; fase móvil A: agua que contenía 0,1 % de acetato de amonio; fase móvil B: acetonitrilo; gradiente: 20 % a 95 % de B durante 10 minutos; velocidad de flujo: 1,0 ml/minuto). Tiempo de retención para **D7**: 8,37 minutos.

Etapas 8. Síntesis de *ter*-butil (3S,5S)-3-amino-5-fluoropiperidin-1-carboxilato (P3).

Se cargaron metanol (30,2 kg) y **D7** (185,4 kg de la solución de *ter*-butil metil éter de la etapa anterior, que se asumió que contenía 61,01 mmol de **D7**) en un reactor de 15 °C a 30 °C. La mezcla se purgó con nitrógeno a través de un tubo subsuperficial de 0,2 a 0,3 MPa, luego se ventiló de 0,02 a 0,05 MPa; esta operación de purga/ventilación se llevó a cabo de 5 a 8 veces, hasta que el contenido de oxígeno fue de menos de 1,0 %. Se agregó paladio sobre carbón (10 %, 0,95 kg) de 15 °C a 30 °C, luego de lo cual se enjuagó el embudo de adición con agua (0,15 kg). La mezcla resultante se purgó con nitrógeno a través de un tubo subsuperficial de 0,2 a 0,3 MPa, luego se ventiló de 0,02 a 0,05 MPa de 15 °C a 30 °C. Este procedimiento de purga/ventilación se repitió no menos de 9 veces. Se llevó a cabo el mismo procedimiento de 5 a 8 veces, con la excepción de que se usó hidrógeno en lugar de nitrógeno. La mezcla de reacción luego se purgó con hidrógeno a través de un tubo subsuperficial de 0,1 a 0,2 MPa, y se hizo reaccionar de 20 °C a 30 °C. El hidrógeno se intercambiaba dos veces cada 1 a 3 horas de la siguiente manera: la mezcla se purgó con hidrógeno a través de un tubo subsuperficial de 0,1 a 0,2 MPa, luego se ventiló de 0,02-0,05 MPa y finalmente se purgó con hidrógeno de 0,1 a 0,2 MPa. Después de 6 a 12 horas de 20 °C a 30 °C, se obtuvieron muestras de la mezcla de reacción cada 3 a 12 horas para análisis de HPLC, hasta que el porcentaje de área de **D7** fuera de ≤1,0 % (condiciones de HPLC: Columna: Waters XBridge BEH C18, 4,6 x 150 mm, 3,5 µm; fase móvil A: agua que contenía 0,1 % de acetato de amonio; fase móvil B: acetonitrilo; gradiente: 20 % a 95 % de B durante 10 minutos; velocidad de flujo: 1,0 ml/minuto). Tiempo de retención típico para **D7**: 8,6 minutos.

La mezcla de reacción luego se purgó con nitrógeno de 0,2 a 0,3 MPa y se ventiló

de 0,02 a 0,05 MPa de 15 °C a 30 °C. Este procedimiento de purga/ventilación se llevó a cabo no menos de 9 veces. La filtración de 20 °C a 30 °C, seguida del enjuague de la torta de filtro con *ter*-butil metil éter (30,0 kg, 40,5 l, 2 volúmenes con respecto a **D6**), proporcionó un filtrado, que se concentró a -0,08 MPa a un volumen de 20 a 30 l mientras la temperatura se mantuvo por debajo de 40 °C. Se agregó *n*-heptano (25,0 kg) de 15 °C a 30 °C, y la mezcla resultante se concentró de la misma manera a un volumen de 19 a 30 l. Se agregó *n*-heptano (25,0 kg) nuevamente, y la concentración se llevó a cabo de la misma manera a un volumen de 35 a 40 l; esto se calentó hasta 40 °C a 50 °C, se agitó a esa temperatura durante 1 a 2 horas, y se filtró de 48 °C a 53 °C. El sólido recolectado se secó de 35 °C a 45 °C en un flujo de nitrógeno. Después de 6 a 12 horas, se obtuvieron muestras del material cada 2 a 12 horas para análisis hasta que el *ter*-butil metil éter residual fuera de ≤5000 ppm, el *n*-heptano residual fuera de ≤5000 ppm, y el metanol residual fuera de ≤3000 ppm. Luego, el sólido se enfrió hasta 15 °C a 30 °C, se tamizó hasta que el aspecto del producto fuera uniforme y se disolvió en diclorometano (187 kg) de 20 °C a 30 °C. Luego de agitar durante 1 a 2 horas, este se filtró, y la capa orgánica se concentró a -0,08 MPa a un volumen de 25 a 35 l mientras la temperatura se mantuvo por debajo de 40 °C. La mezcla resultante se diluyó con *n*-heptano (3 volúmenes) y se concentró a un volumen de 18 a 22 l (aproximadamente 3 volúmenes); esta operación se repitió un total de 3 veces, efectuando el intercambio de *n*-heptano por diclorometano. La mezcla resultante se agitó y se cristalizó de 20 °C a 30 °C; luego se filtró para aislar **P3** como un sólido blancuzco. Rendimiento: 5,60 kg, 98 % mediante ensayo; peso corregido: 5,48 kg, 25,1 mol, 41 % en 2 etapas. Pureza según HPLC: 99 % (condiciones de HPLC: Columna: Waters XBridge BEH C18, 4,6 x 150 mm, 3,5 µm; fase móvil A: agua que contenía 0,1 % de acetato de amonio; fase móvil B: acetonitrilo; gradiente: 20 % a 95 % de B durante 10 minutos; velocidad de flujo: 1,0 ml/minuto). Tiempo de retención para **P3**: 4,93 minutos. ¹H RMN (401 MHz, cloroformo-*d*), picos característicos: δ 4,78 (br d, *J*_{HF} = 46,7 Hz, 1H), 4,27 – 3,91 (m, 2H), 3,21 – 3,11 (m, 1H), 3,02 – 2,84 (m, 1H), 2,62 – 2,35 (m, 1H), 2,29 – 2,17 (m, 1H), 1,44 (s, 9H).

Preparación P4

*Ácido 2-(5-((3-(etoxi-*d*₅)piridin-2-il)oxi)piridin-3-il)pirimidin-5-carboxílico (P4)*

lavó con salmuera (50 ml), se secó en sulfato de sodio, se filtró y se concentró para obtener el producto crudo. El producto crudo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (ISCO 80 g, 3 % de EtOAc en éter de petróleo) para obtener el compuesto del título como un aceite amarillo. Los lotes combinados produjeron 3,70 g (86 %). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 8,29 (d, $J = 2,5$ Hz, 1H), 8,19 (d, $J = 4,0$ Hz, 1H), 7,12-7,24 (m, 2H).

Etapas 2. Síntesis de 3-(etoxi- d_5)piridin-1-óxido

Se agregó ácido *m*-cloroperoxibenzoico (7620 mg, 37,5 mmol, 1,3 equiv.) a una solución de 3-(etoxi- d_5)piridina (3700 mg, 28,9 mmol, 1,0 equiv.) en diclorometano (150 ml) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a 15 °C durante 3 días. Se agregó tiosulfato de sodio acuoso (100 ml). La mezcla de reacción se agitó a 15 °C durante 0,5 horas. La mezcla se extrajo con diclorometano (100 ml). La capa orgánica se secó en sulfato de sodio, se filtró y se concentró para obtener el producto crudo. El producto crudo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (diclorometano–10:1 diclorometano:metanol) para obtener el compuesto del título (2500,0 mg, 60,1 %) como un sólido rojo. ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 7,93-8,00 (m, 1H), 7,86-7,92 (m, 1H), 7,15 (dd, $J = 8,6, 6,4$ Hz, 1H), 6,87 (ddd, $J = 8,6, 2,2, 0,7$ Hz, 1H).

Etapas 3. Síntesis de 2-((5-bromopiridin-3-il)oxi)-3-(etoxi- d_5)piridina

Se agregaron diisopropiletilamina (11,3 ml, 65,0 mmol, 3,75 equiv.) y hexafluorofosfato de bromotripirrolidinofosfonio (10,5 g, 22,5 mmol, (1,3 equiv.) a una solución agitada de 3-(etoxi- d_5)piridin-1-óxido (2500 mg, 17,3 mmol, 1,0 equiv.) y 3-bromo-5-hidroxipiridina (3020 mg, 17,3 mmol, 1,0 equiv.) en tetrahidrofurano (60 ml) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a 15 °C durante 18 horas. La mezcla de reacción se concentró hasta secarse y se disolvió en diclorometano (150 ml). La capa orgánica se lavó con hidróxido de sodio 1N (150 ml), agua (100 ml), y salmuera (100 ml). La capa orgánica se secó en sulfato de sodio, se filtró y se concentró para obtener un aceite. El aceite crudo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (éter de petróleo–80:20 éter de petróleo:acetato de etilo) para obtener el producto (3600,0 mg, 69,2 %) como un sólido blanco. ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 8,48 (d, $J = 1,8$ Hz, 1H), 8,44 (d, $J = 2,3$ Hz, 1H), 7,65-7,74 (m, 2H), 7,19-7,29 (m, 1H), 7,03 (dd, $J = 7,9, 4,9$ Hz, 1H).

Etapas 4. Síntesis de ácido (5-((3-(etoxi- d_5)piridin-2-il)oxi)piridin-3-il)borónico

Se agregaron bis(pinacolato)diboro (3800 mg, 15,0 mmol, 1,2 equiv.), acetato de potasio (3670 mg, 37,4 mmol, 3,0 equiv.) y [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio(II) ($\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$; 456 mg, 0,62 mmol, 0,05

equiv.) a una solución de 2-((5-bromopiridin-3-il)oxi)-3-(etoxi- d_5)piridina (3740 mg, 12,5 mmol, 1,0 equiv.) en dioxano (120 ml). La mezcla resultante se desgasificó y se purgó con nitrógeno 3 veces y luego se agitó a 100 °C en N_2 durante 2 h. La mezcla resultante se concentró y el residuo se diluyó con acetato de etilo (200 ml) y se lavó con salmuera (100 ml). La fase orgánica se secó en sulfato de sodio, se filtró y se concentró hasta secarse para obtener el producto crudo (7000,0 mg) como un aceite marrón, que se usó directamente en la siguiente etapa. MS (ES+) 265,8 (M+H).

Etapas 5. Síntesis de etil 2-(5-((3-(etoxi- d_5)piridin-2-il)oxi)piridin-3-il)pirimidin-5-carboxilato

La reacción se llevó a cabo en dos lotes paralelos; la preparación del lote de ejemplo es de la siguiente manera: Se agregaron etil 2-cloropirimidin-5-carboxilato (1000 mg, 5,4 mmol, 1,5 equiv.), carbonato de potasio (980 mg, 7,1 mmol, 2,0 equiv.) y [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio(II), complejo con diclorometano (130 mg, 0,18 mmol, 0,05 equiv.) a una solución de ácido (5-((3-(etoxi- d_5)piridin-2-il)oxi)piridin-3-il)borónico (1880 mg, 3,6 mmol, 1,0 equiv.) en dioxano (25 ml) y agua (2,5 ml). La mezcla resultante se purgó con nitrógeno y luego se agitó a 90 °C durante 2 horas. La reacción se filtró, y el filtrado se concentró. El residuo se diluyó con acetato de etilo (200 ml) y se lavó con salmuera (2 x 100 ml). La capa orgánica se secó en sulfato de sodio, se filtró y se concentró para obtener el producto crudo. El material crudo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (éter de petróleo : acetato de etilo; 70:30) para obtener el producto como un sólido amarillo. Los lotes combinados produjeron 2,3 g (50 %). 1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ ppm 9,57 (d, J = 1,7 Hz, 1H), 9,34 (s, 2H), 8,68 (d, J = 2,7 Hz, 1H), 8,61 (dd, J = 2,6, 1,8 Hz, 1H), 7,73 (dd, J = 4,8, 1,6 Hz, 1H), 7,28-7,28 (m, 1H), 7,04 (dd, J = 8,1, 4,9 Hz, 1H), 7,00-7,08 (m, 1H), 4,48 (q, J = 7,1 Hz, 2H), 1,46 (t, J = 7,1 Hz, 4H). MS (ES+) 372,1 (M+H).

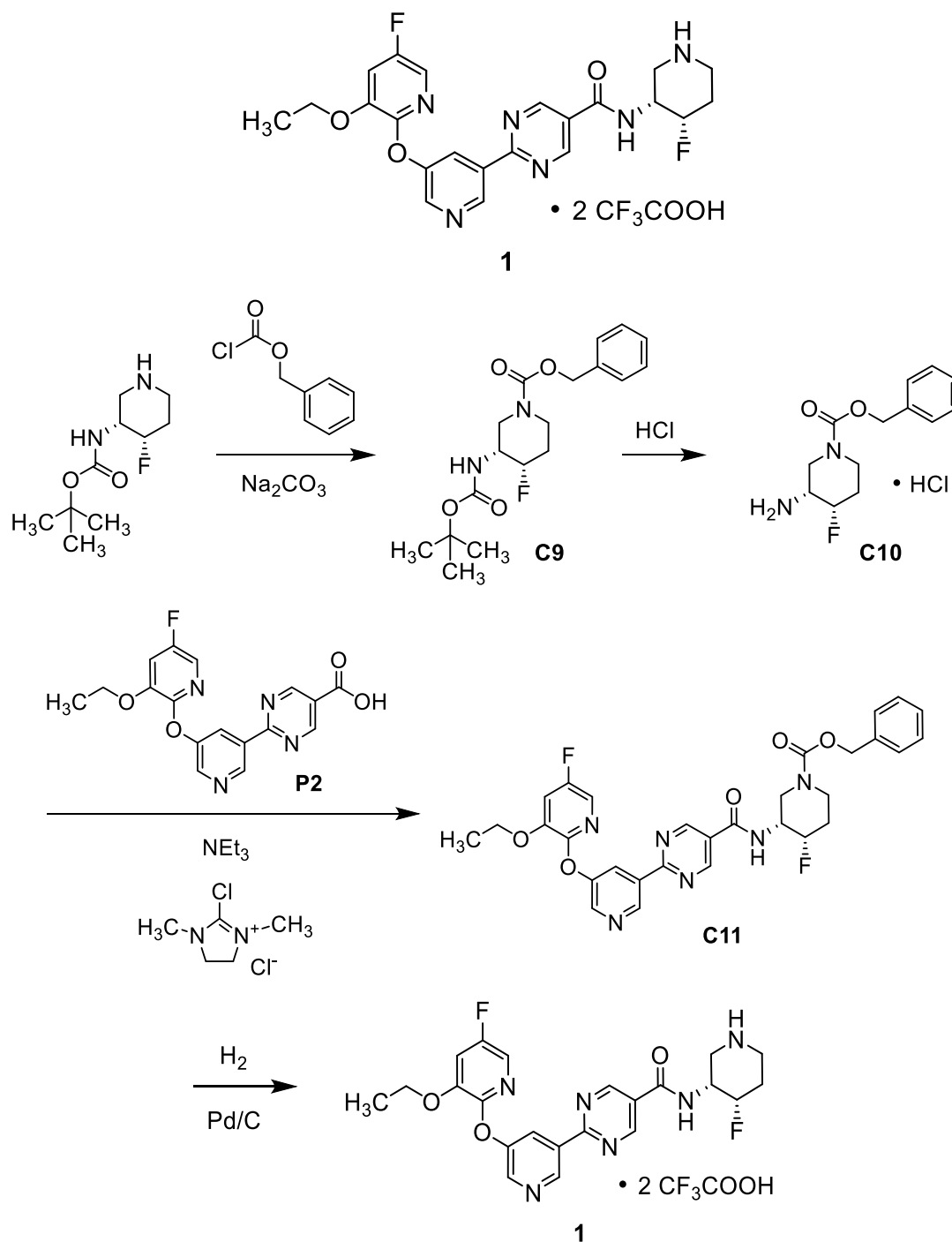
Etapas 6: Ácido 2-(5-((3-(etoxi- d_5)piridin-2-il)oxi)piridin-3-il)pirimidin-5-carboxílico (P4)

La reacción se llevó a cabo en dos lotes paralelos; la preparación del lote de ejemplo es de la siguiente manera: Se agregó hidróxido de sodio (1080 mg, 26,9 mmol, 5,0 equiv.) a una solución de etil 2-(5-((3-(etoxi- d_5)piridin-2-il)oxi)piridin-3-il)pirimidin-5-carboxilato (2000 mg, 5,4 mmol, 1,0 equiv.) en tetrahidrofurano (70 ml) y agua (35 ml) a 15 °C. La solución resultante se agitó a 15 °C durante 1 hora. La mezcla se concentró para retirar el tetrahidrofurano. La mezcla acuosa se acidificó a pH de 4 con ácido clorhídrico 4M, se diluyó con agua (50 ml) y se agitó a 15 °C durante 20 minutos. El sólido se filtró, se lavó con agua (3x10 ml), y se secó para obtener ácido 2-(5-((3-(etoxi- d_5)piridin-2-il)oxi)piridin-3-il)pirimidin-5-carboxílico como un sólido verde. Los lotes

combinados produjeron 1,28 g (60 %). ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 9,41 (d, J = 1,7 Hz, 1H), 9,33 (s, 2H) 8,67 (d, J = 2,7 Hz, 1 H), 8,33-8,41 (m, 1H) 7,70 (dd, J = 4,9, 1,5 Hz, 1H), 7,58 (dd, J = 7,8, 1,5 Hz, 1H), 7,19 (dd, J = 7,8, 4,9 Hz, 1H). HRMS (TOF) 344,1402 (M+H).

Ejemplo 1

2-{5-[(3-etoxi-5-fluoropiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}-N-[(3R,4S)-4-fluoropiperidin-3-il]pirimidin-5-carboxamida, sal de bis(trifluoroacetato) (**1**)



Etapa 1. Síntesis de bencil (3R,4S)-3-[(ter-butoxicarbonil)amino]-4-fluoropiperidin-1-carboxilato (C9).

Se agregó cloroformiato de bencilo (0,116 ml, 0,813 mmol) a una mezcla a 0 °C de *ter*-butil [(3R,4S)-4-fluoropiperidin-3-il]carbamato (150 mg, 0,69 mmol) y carbonato de sodio (146 mg, 1,38 mmol) en tetrahidrofurano (8 ml), y la mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante tres días. Luego se trató con agua (20 ml) y se extrajo con acetato de etilo (2 x 20 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con solución acuosa saturada de cloruro de sodio (50 ml), se secaron en sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron al vacío para obtener **C9** como un aceite incoloro (290 mg). Este material contenía impurezas, mediante análisis de ¹H RMN, pero se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional ¹H RMN (400 MHz, cloroformo-*d*), picos característicos: δ 4,95 – 4,76 (m, 2H), 3,87 – 3,68 (m, 1H), 3,12 – 2,99 (m, 1H), 2,11 – 1,96 (m, 1H), 1,45 (s, 9H).

Etapa 2. Síntesis de bencil (3R,4S)-3-amino-4-fluoropiperidin-1-carboxilato, sal de clorhidrato (C10).

Una mezcla de **C9** (de la etapa anterior; 290 mg, ≤0,69 mmol) y cloruro de hidrógeno (solución 4 M en 1,4-dioxano; 6,0 ml) se agitó a 15 °C durante 1 hora, después de lo cual se concentró al vacío, para obtener **C10** como un sólido blanco. Rendimiento: 200 mg, 0,69 mmol, cuantitativo en 2 etapas. ¹H RMN (400 MHz, óxido de deuterio) δ 7,48 – 7,33 (m, 5H), 5,14 (s, 2H), 5,11 (br d, *J*_{HF} = 48 Hz, 1H), 4,11 – 3,94 (m, 1H), 3,88 – 3,28 (m, 4H), 2,14 – 2,01 (m, 1H), 2,01 – 1,81 (m, 1H).

Etapa 3. Síntesis de bencil (3R,4S)-3-[(2-{5-[(3-etoxi-5-fluoropiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}pirimidin-5-il)carbonil]amino}-4-fluoropiperidin-1-carboxilato (C11).

A una solución a 25 °C de **P2** (50,0 mg, 0,140 mmol) en *N,N*-dimetilacetamida (3,0 ml) se agregaron **C10** (48,6 mg, 0,168 mmol), trietilamina (58,7 µl, 0,421 mmol) y cloruro de 2-cloro-1,3-dimetil-4,5-dihidro-1*H*-imidazol-3-io (71,2 mg, 0,421 mmol). Después de que la mezcla de reacción se agitó a 50 °C durante 1 hora, esta se diluyó con agua (20 ml) y se extrajo con acetato de etilo (20 ml). La capa orgánica se lavó con una solución acuosa saturada de cloruro de sodio (20 ml), se secó en sulfato de sodio, se filtró y se concentró al vacío. La cromatografía de gel de sílice (eluyente: 9:1 acetato de etilo / éter de petróleo) produjo **C11** como un sólido amarillo. Rendimiento: 80,0 mg, 0,135 mmol, 96 %. LCMS *m/z* 591,2 [*M*+*H*]⁺.

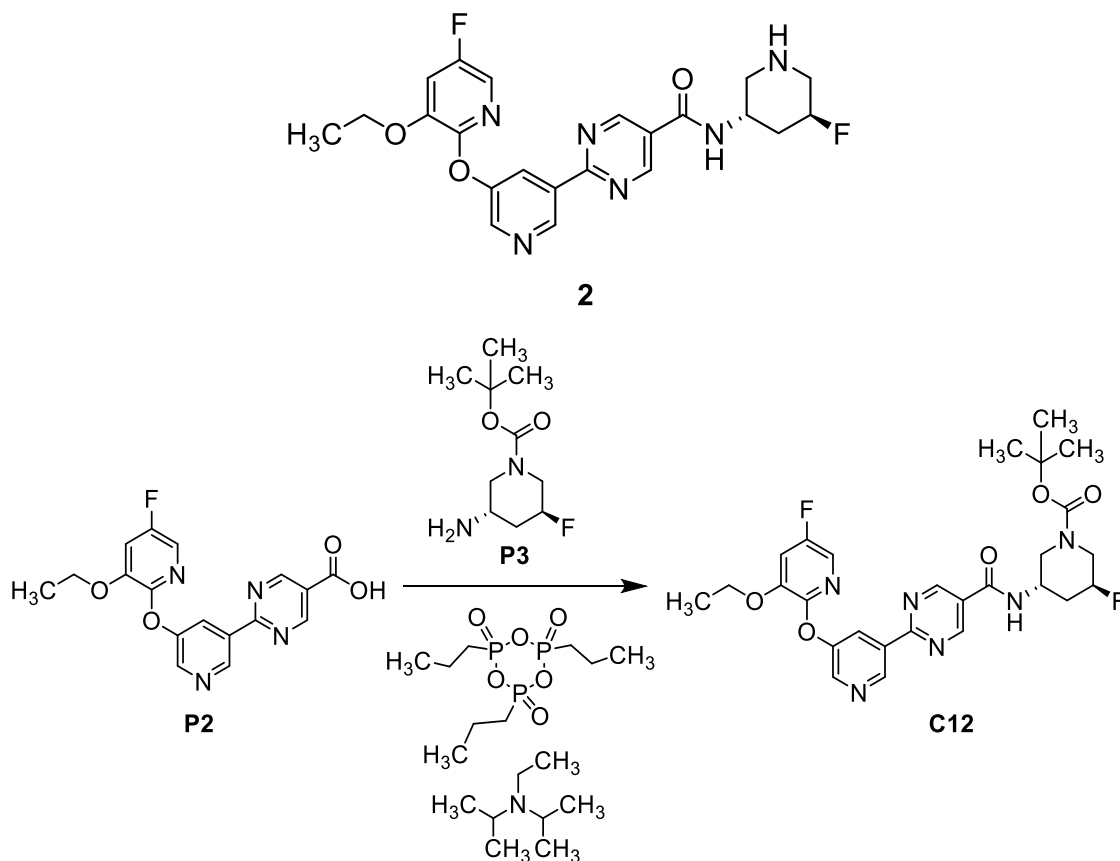
Etapa 4. Síntesis de 2-{5-[(3-etoxi-5-fluoropiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}-N-[(3R,4S)-4-fluoropiperidin-3-il]pirimidin-5-carboxamida, sal de bis(trifluoroacetato) (1).

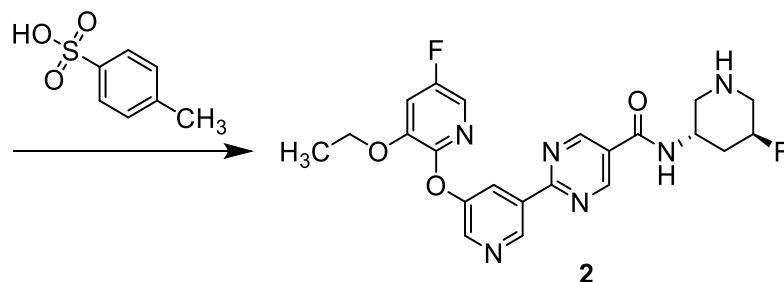
Se agregó 10 % de paladio sobre carbón (60,0 mg) a una solución de **C11** (60,0 mg, 0,102 mmol) en tetrahidrofurano (10 ml), después de lo cual la mezcla se

desgasificó al vacío y luego se purgó con hidrógeno; este ciclo de evacuación-purga se llevó a cabo un total de tres veces. Luego, la mezcla de reacción se agitó en un globo de hidrógeno durante dos horas a 25 °C, momento en el que se combinó con una reacción similar que se llevó a cabo usando **C11** (20,0 mg, 33,9 μmol) y se filtró. El filtrado se concentró al vacío y se purificó mediante HPLC de fase inversa (Columna: Agela Durashell C18, 5 μm; fase móvil A: 0,1 % de ácido trifluoroacético en agua; fase móvil B: acetonitrilo; gradiente: 14 % a 44 % de B) para obtener 2-{5-[(3-etoxi-5-fluoropiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}-N-[(3*R*,4*S*)-4-fluoropiperidin-3-il]pirimidin-5-carboxamida, sal de bis(trifluoroacetato) como una goma amarilla. Rendimiento combinado: 28,1 mg, 41,1 μmol, 30 %. LCMS *m/z* 457,4 [M+H]⁺. ¹H RMN (400 MHz, cloroformo-*d*), picos característicos: δ 9,52 (br s, 1H), 9,16 (br s, 2H), 8,80 (s, 1H), 8,78 – 8,57 (m, 2H), 7,54 (s, 1H), 7,06 (dd, *J* = 9,2, 2,3 Hz, 1H), 4,99 (br d, *J*_{HF} = 50 Hz, 1H), 4,91 – 4,70 (m, 1H), 4,12 (q, *J* = 6,9 Hz, 2H), 2,41 – 2,09 (m, 2H), 1,48 (t, *J* = 6,9 Hz, 3H).

Ejemplo 2

2-{5-[(3-etoxi-5-fluoropiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}-N-[(3*S*,5*S*)-5-fluoropiperidin-3-il]pirimidin-5-carboxamida (**2**)





*Etapa 1. Síntesis de ter-butyl (3S,5S)-3-[[2-{5-[(3-etoxi-5-fluoropiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}pirimidin-5-il]carbonil]amino}-5-fluoropiperidin-1-carboxilato (**C12**).*

Se agregaron *N,N*-diisopropiletilamina (2,79 ml, 16,0 mmol) y **P3** (500 mg, 2,29 mmol) a una solución a temperatura ambiente de **P2** (816 mg, 2,29 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (10 ml). Después de que la solución resultante se enfrió hasta 0 °C, se agregó 2,4,6-tripropil-1,3,5,2,4,6-trioxatrisfosfinan 2,4,6-trióxido (T3P; 50 % de solución en acetato de etilo; 1,6 ml, 2,7 mmol), y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. El análisis de LCMS en este punto indicó la presencia de **C12**: LCMS *m/z* 557,4 [M+H]⁺. La mezcla de reacción se dividió en agua y acetato de etilo, y la capa acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron dos veces con agua, una vez con solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio y una vez con solución acuosa saturada de cloruro de sodio, luego se secaron en sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron al vacío para obtener **C12** como un sólido amarillo. Rendimiento: 1,00 g, 1,80 mmol, 79 %.

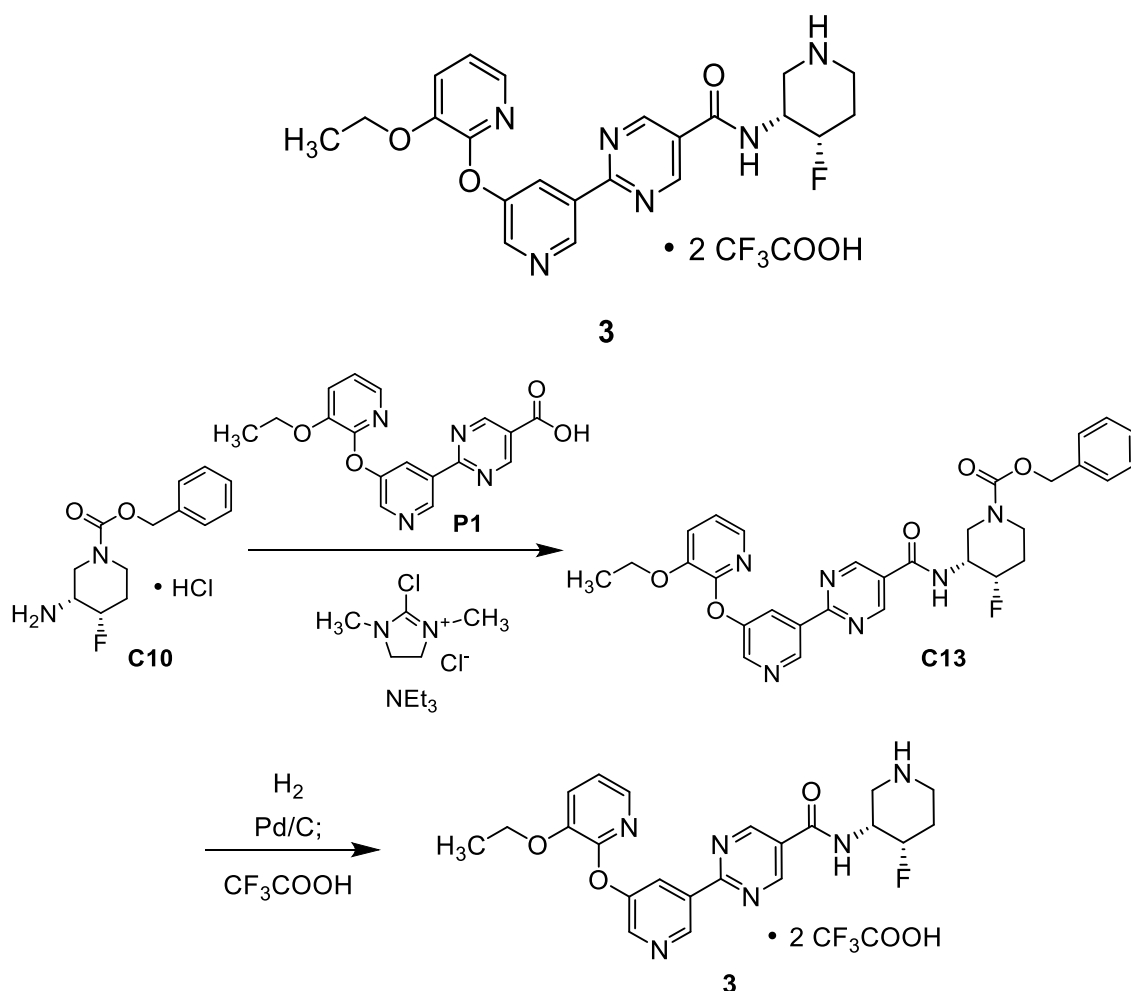
*Etapa 2. Síntesis de 2-{5-[(3-etoxi-5-fluoropiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}-N-[(3S,5S)-5-fluoropiperidin-3-il]pirimidin-5-carboxamida (**2**).*

Se agregó ácido *p*-toluensulfónico monohidrato (684 mg, 3,60 mmol) a una solución de **C12** (1,00 g, 1,80 mmol) en acetato de etilo (10 ml), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente hasta que se obtuvo una solución. Luego de que la mezcla de reacción se agitara a reflujo durante 2 horas y, luego, a temperatura ambiente durante 2 horas, el solvente se decantó de la goma resultante y la goma se trituró cuatro veces con acetato de etilo, y dos veces con heptano. El sólido obtenido se dividió en acetato de etilo y solución acuosa de hidróxido de sodio 1 M, y la capa acuosa se extrajo cuatro veces con acetato de etilo; las capas orgánicas combinadas se secaron en sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron al vacío. El material resultante se disolvió en acetato de etilo (aproximadamente 70 ml) a reflujo, y se trató con heptano (300 ml) hasta que la mezcla se tornó levemente turbia, después de lo cual la mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La filtración, seguida por el lavado de la torta de filtro con 1:1 acetato de etilo / heptano, produjo 2-{5-[(3-etoxi-5-

fluoropiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}-*N*-[(3*S*,5*S*)-5-fluoropiperidin-3-il]pirimidin-5-carboxamida como un sólido blanco. Rendimiento: 580 mg, 1,27 mmol, 71 %. LCMS *m/z* 457,2 [M+H]⁺. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,38 (d, *J* = 1,7 Hz, 1H), 9,26 (s, 2H), 8,63 (d, *J* = 2,7 Hz, 1H), 8,59 (br d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 8,35 (dd, *J* = 2,7, 1,7 Hz, 1H), 7,71 (d, mitad de cuarteto AB, *J* = 2,7 Hz, 1H), 7,68 (dd, componente de sistema ABX, *J* = 9,8, 2,7 Hz, 1H), 4,82 (br d, *J*_{HF} = 48 Hz, 1H), 4,20 (q, *J* = 7,0 Hz, 2H), 4,18 – 4,08 (m, 1H), 3,02 – 2,86 (m, 2H), 2,77 – 2,62 (m, 1H), 2,5 – 2,43 (m, 1H, asumido; parcialmente oculto por el pico de solvente), 2,19 – 2,08 (m, 1H), 1,91 – 1,72 (m, 1H), 1,37 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H).

Ejemplo 3

2-{5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}-*N*-[(3*R*,4*S*)-4-fluoropiperidin-3-il]pirimidin-5-carboxamida, sal de bis(trifluoroacetato) (**3**)



*Etapas 1. Síntesis de bencil (3*R*,4*S*)-3-[(2-{5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}pirimidin-5-il)carbonil]amino}-4-fluoropiperidin-1-carboxilato (**C13**).*

A una solución a 25 °C de **P1** (50,0 mg, 0,148 mmol) en *N,N*-dimetilacetamida (3,0 ml) se agregaron **C10** (51,2 mg, 0,177 mmol), cloruro de 2-cloro-1,3-dimetil-4,5-

dihidro-1*H*-imidazol-3-io (75,0 mg, 0,444 mmol) y trietilamina (61,8 µl, 0,443 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 50 °C durante 1 hora, después de lo cual se agregó agua (20 ml), y la mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (20 ml). La capa orgánica se lavó con solución acuosa saturada de cloruro de sodio (20 ml), se secó en sulfato de sodio, se filtró, se concentró al vacío y se sometió a cromatografía en gel de sílice (eluyente: 4:1 acetato de etilo / éter de petróleo), que produjo **C13** como un sólido amarillo. Rendimiento: 80,0 mg, 0,140 mmol, 95 %. LCMS *m/z* 573,2 [M+H]⁺.

*Etapas 2. Síntesis de 2-{5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}-N-[(3*R*,4*S*)-4-fluoropiperidin-3-il]pirimidin-5-carboxamida, sal de bis(trifluoroacetato) (3).*

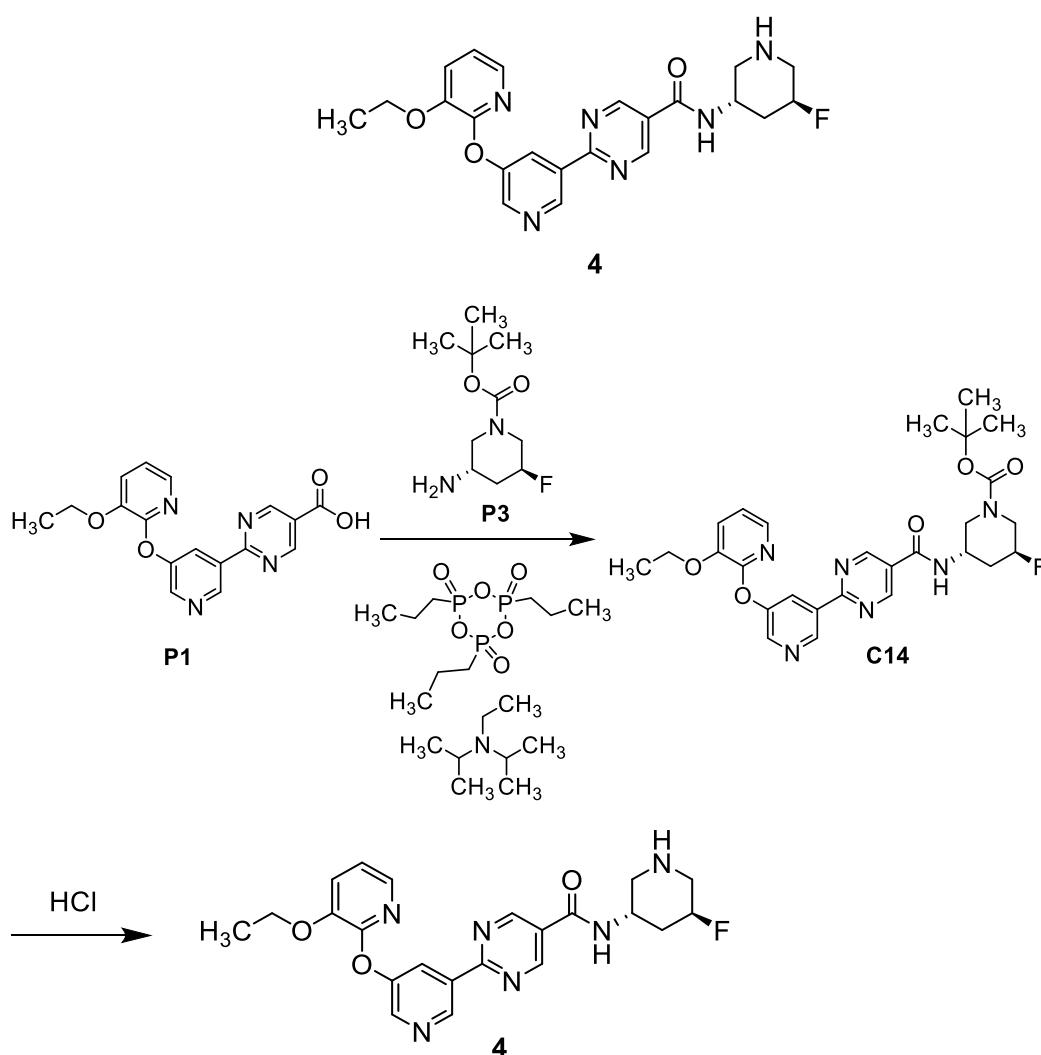
A una solución de **C13** (60,0 mg, 0,105 mmol) en tetrahidrofurano (10 ml) se agregó 10 % de paladio sobre carbón (60,0 mg), después de lo cual la mezcla se desgasificó al vacío y luego se purgó con hidrógeno; este ciclo de evacuación-purga se llevó a cabo un total de tres veces. La mezcla de reacción se agitó en un globo de hidrógeno durante cinco horas a 25 °C y luego se combinó con una reacción similar llevada a cabo usando **C13** (20,0 mg, 34,9 µmol). Después de que se filtró esta mezcla, el filtrado se concentró al vacío y se purificó mediante HPLC de fase inversa (Columna: YMC-Actus Triart C18, 5 µm; fase móvil A: agua que contenía 0,05 % de hidróxido de amonio; fase móvil B: acetonitrilo; gradiente: 24 % a 64 % de B). La base libre 2-{5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}-N-[(3*R*,4*S*)-4-fluoropiperidin-3-il]pirimidin-5-carboxamida se obtuvo como un sólido blanco. Rendimiento combinado de la base libre 2-{5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}-N-[(3*R*,4*S*)-4-fluoropiperidin-3-il]pirimidin-5-carboxamida: 12 mg, 27 µmol, 19 %. LCMS *m/z* 439,1 [M+H]⁺. ¹H RMN (400 MHz, cloroformo-*d*) δ 9,52 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H), 9,17 (s, 2H), 8,65 (d, *J* = 2,7 Hz, 1H), 8,58 – 8,54 (m, 1H), 7,70 (dd, *J* = 4,9, 1,5 Hz, 1H), 7,27 – 7,23 (m, 1H, asumido; parcialmente oculto por el pico de solvente), 7,02 (dd, *J* = 7,9, 4,9 Hz, 1H), 6,68 (br d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 4,93 (br d, *J*_{HF} = 49 Hz, 1H), 4,48 – 4,31 (m, 1H), 4,18 (q, *J* = 7,0 Hz, 2H), 3,10 (dd, *J* = 12,1, 4,5 Hz, 1H), 3,00 – 2,80 (m, 3H), 2,15 – 2,01 (m, 1H), 1,97 – 1,77 (m, 1H), 1,50 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H).

La base libre 2-{5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}-N-[(3*R*,4*S*)-4-fluoropiperidin-3-il]pirimidin-5-carboxamida (12 mg, 27 µmol) se disolvió en una solución acuosa de ácido trifluoroacético (0,1 % de ácido trifluoroacético en agua; 12 ml) y luego se liofilizó durante 16 horas para obtener 2-{5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}-N-[(3*R*,4*S*)-4-fluoropiperidin-3-il]pirimidin-5-carboxamida, sal de bis(trifluoroacetato) como una goma amarilla. Rendimiento combinado de 2-{5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}-N-[(3*R*,4*S*)-4-fluoropiperidin-3-il]pirimidin-5-carboxamida, sal de bis(trifluoroacetato): 12,9 mg, 19,4 µmol, 14 %. LCMS *m/z* 439,4 [M+H]⁺. ¹H RMN (400 MHz, cloroformo-*d*) δ 10,56 – 10,28

(br s, 1H), 9,80 – 9,55 (br s, 1H), 9,71 (s, 1H), 9,24 (s, 2H), 9,09 (br s, 1H), 8,86 (br d, $J = 7,9$ Hz, 1H), 8,77 (d, $J = 2,5$ Hz, 1H), 7,72 (dd, $J = 4,9, 1,5$ Hz, 1H), 7,32 (dd, $J = 8,1, 1,5$ Hz, 1H), 7,14 (dd, $J = 8,0, 4,9$ Hz, 1H), 4,97 (br d, $J_{\text{HF}} = 49$ Hz, 1H), 4,96 – 4,78 (m, 1H), 4,18 (q, $J = 7,0$ Hz, 2H), 3,83 – 3,72 (m, 1H), 3,5 – 3,2 (m, 3H), 2,42 – 2,11 (m, 2H), 1,50 (t, $J = 7,0$ Hz, 3H).

Ejemplo 4

2-{5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}-N-[(3S,5S)-5-fluoropiperidin-3-il]pirimidin-5-carboxamida (**4**)



Etapas 1. Síntesis de ter-butil (3S,5S)-3-[[2-{5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}pirimidin-5-il]carbonil]amino}-5-fluoropiperidin-1-carboxilato (C14**).**

Se agregaron *N,N*-diisopropiletilamina (53,1 ml, 305 mmol) y **P3** (9,50 g, 43,5 mmol) a una solución de **P1** (14,7 g, 43,4 mmol) en acetonitrilo (210 ml). La mezcla se enfrió hasta 0 °C, y luego se agregó 2,4,6-tripropil-1,3,5,2,4,6-trioxatrfosfinan 2,4,6-trióxido (T3P; 50 % de solución en acetato de etilo; 30,5 ml, 51,2 mmol) mediante una

jeringa, en aproximadamente 4 minutos. Después de que la mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 45 minutos, el baño de hielo se retiró y la mezcla de reacción alcanzó temperatura ambiente y se agitó durante 17 horas. Luego se concentró al vacío, el residuo se dividió en agua y acetato de etilo, y la capa acuosa se extrajo 2 veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron secuencialmente con solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio y solución acuosa saturada de cloruro de sodio; un precipitado que apareció durante el lavado con cloruro de sodio acuoso saturado se retiró mediante filtración y se eliminó. La capa de cloruro de sodio acuoso saturado se extrajo una vez con acetato de etilo, y las capas orgánicas combinadas se concentraron al vacío. El residuo se disolvió en una mezcla de cloruro de metileno y metanol y se preadsorbió en gel de sílice. La cromatografía de gel de sílice (gradiente: 30 % a 100 % de acetato de etilo en heptano) se llevó a cabo, y se observó que el producto tenía solubilidad limitada en el eluyente de acetato de etilo / heptano. Esta purificación produjo **C14** como un sólido blancuzco. Rendimiento: 19,1 g, 35,5 mmol, 82%. LCMS m/z 539,3 $[M+H]^+$. 1H RMN (400 MHz, cloroformo- d) δ 9,48 (d, J = 1,8 Hz, 1H), 9,12 (s, 2H), 8,63 (d, J = 2,6 Hz, 1H), 8,55 (dd, J = 2,7, 1,8 Hz, 1H), 7,70 (dd, J = 4,9, 1,5 Hz, 1H), 7,26 (dd, J = 7,8, 1,5 Hz, 1H), 7,03 (dd, J = 7,9, 4,9 Hz, 1H), 6,97 – 6,37 (v br m, 1H), 4,78 (br d, J_{HF} = 46,7 Hz, 1H), 4,46 – 4,33 (m, 1H), 4,18 (q, J = 7,0 Hz, 2H), 4,08 – 3,05 (v br m, 4H), 2,41 – 2,11 (m, 1H), 2,02 – 1,79 (m, 1H), 1,49 (t, J = 7,0 Hz, 3H), 1,49 (s, 9H).

*Etapa 2. Síntesis de 2-{5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}-N-[(3S,5S)-5-fluoropiperidin-3-il]pirimidin-5-carboxamida (**4**).*

Se agregó una solución de cloruro de hidrógeno en 1,4-dioxano (4 M; 520 ml, 2,1 mol) durante 10 minutos a una solución a temperatura ambiente de **C14** (159 g, 295 mmol) en tetrahidrofurano (850 ml); la temperatura de reacción aumentó hasta 35 °C a 40 °C, y esta temperatura se mantuvo usando una manta térmica. Después de que se completó la adición, la mezcla de reacción se agitó durante 3 horas de 35 °C a 40 °C. El análisis de LCMS indicó que se mantuvo 20 % del material de inicio, por lo que se agregó nuevamente una solución de cloruro de hidrógeno en 1,4-dioxano (4 M; 150 ml, 600 mmol) a la mezcla de reacción, y la agitación continuó de 35 °C a 40 °C durante 30 minutos. En este punto, se mantuvo 5 % del material de inicio mediante análisis de LCMS, y la mezcla de reacción se trató con una solución de cloruro de hidrógeno en 1,4-dioxano (4 M; 60 ml, 240 mmol). Después de 45 minutos adicionales de 35 °C a 40 °C, la mezcla de reacción se concentró al vacío, y el sólido resultante se disolvió en agua (1 l). Esta solución se trató con solución acuosa de hidróxido de sodio (1 M; 900

ml, 900 mmol) y luego se diluyó con agua (400 ml) para facilitar la agitación; después de 15 minutos a temperatura ambiente, el precipitado se recolectó mediante filtración y se lavó con agua (4 x 250 ml). Este sólido se llevó a un volumen total de 800 ml mediante adición de agua, y luego se suspendió con metanol (800 ml) a temperatura ambiente durante 2 horas, usando un agitador superior. La suspensión se filtró, y la torta de filtro se lavó con una mezcla de metanol y agua (1:1, 1 l). Este sólido se combinó con el producto de diversas reacciones similares llevadas a cabo usando **C14** (≤ 946 mmol); los lotes combinados se suspendieron en acetato de etilo (1,1 l) y se agitaron durante 1 hora a temperatura ambiente usando un agitador mecánico. Después de que el sólido se recolectó mediante filtración, este se lavó con acetato de etilo para obtener 2-{5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}-N-[(3S,5S)-5-fluoropiperidin-3-il]pirimidin-5-carboxamida como un sólido blancuzco. La estructura de **4** se estableció en función de la cristalografía de rayos X de un solo cristal, como se describe para la forma de sal de tosilato más adelante. Rendimiento: 330 g, 753 mmol, 61 % en 2 etapas. LCMS m/z 439,3 [M+H]⁺. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,38 (d, J = 1,8 Hz, 1H), 9,26 (s, 2H), 8,64 (d, J = 2,7 Hz, 1H), 8,60 (br d, J = 7,9 Hz, 1H), 8,36 (dd, J = 2,7, 1,8 Hz, 1H), 7,68 (dd, J = 4,9, 1,5 Hz, 1H), 7,56 (dd, J = 8,1, 1,5 Hz, 1H), 7,17 (dd, J = 8,0, 4,8 Hz, 1H), 4,81 (br d, J_{HF} = 48,3 Hz, 1H), 4,22 – 4,07 (m, 1H), 4,17 (q, J = 7,0 Hz, 2H), 3,02 – 2,86 (m, 2H), 2,69 (br dd, J = 35,1, 14,2 Hz, 1H), 2,5 – 2,38 (m, 2H, asumido; parcialmente oculto por el pico de solvente), 2,19 – 2,07 (m, 1H), 1,91 – 1,72 (m, 1H), 1,37 (t, J = 7,0 Hz, 3H).

El análisis de difracción de rayos X de polvo se llevó a cabo en el sólido de este ejemplo usando un difractómetro Bruker AXS D8 Endeavor equipado con una fuente de radiación Cu (promedio K- α). La rendija de divergencia se estableció en 15 mm de iluminación continua. La radiación difractaria se detectó mediante un detector PSD-Lynx Eye, con la abertura de PSD del detector configurada en 3,00 grados. El voltaje y el amperaje del tubo de rayos X se fijaron a 40 kV y 40 mA, respectivamente. Los datos se recolectaron en el goniómetro zeta-zeta con una longitud de onda de Cu de 3,0 a 40,0 grados 2-zeta con un tamaño de paso de 0,01 grados y un tiempo de paso de 1,0 segundos. El cribado antidispersión se ajustó a una distancia fija de 1,5 mm. Las muestras se sometieron a 15 rotaciones/min durante la recolección. Las muestras se prepararon colocándolas en un portamuestras de bajo fondo de silicio y se rotaron durante la recolección.

Los datos se recolectaron usando el software Bruker DIFFRAC Plus, y el análisis se realizó mediante el software EVA diffract plus. El archivo de datos de PXRD no se procesó antes de la búsqueda de picos. Usando el algoritmo de búsqueda de picos en

el software EVA, los picos seleccionados con un valor umbral de 1 se usaron para realizar asignaciones de picos preliminares. Para garantizar la validez, los ajustes se realizaron manualmente; el resultado de las asignaciones automatizadas se verificó visualmente y las posiciones de picos se ajustaron al máximo de picos. En general, se eligieron los picos con intensidad relativa ≥ 3 %. No se seleccionaron los picos que no se resolvieron o que coincidían con el ruido. Un error típico asociado a la posición de los picos de PXRD indicado en USP hasta $\pm 0,2^\circ$ 2 θ (USP-941). Se prevé alguna variación con respecto a las alturas de picos en función de cambios con tamaños y morfologías de cristales. Los patrones de difracción de rayos X de polvo se proporcionan en la Figura 1. Los datos de PXRD de esta figura se describen también más adelante.

Tabla A: Picos de PXRD para el material cristalino del Ejemplo 4, Forma 1

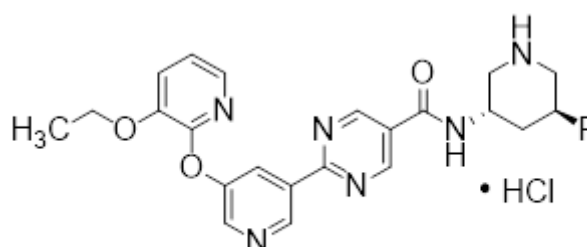
Ángulo 2 θ (°)	Intensidad relativa (%)	Ángulo 2 θ (°)	Intensidad relativa (%)	Ángulo 2 θ (°)	Intensidad relativa (%)
3,6	62	18,0	48	25,4	59
6,3	14	18,3	39	26,9	26
7,2	48	19,2	70	27,7	76
9,6	8	20,1	41	28,4	13
12,6	30	20,7	35	30,2	17
13,1	10	21,3	75	30,7	7
13,7	4	22,1	64	31,6	8
14,5	100	22,6	32	32,9	15
15,8	44	23,4	42	33,8	5
16,6	27	24,3	21		

Tabla B: Picos de PXRD clave para caracterizar el material cristalino del Ejemplo 4, Forma 1

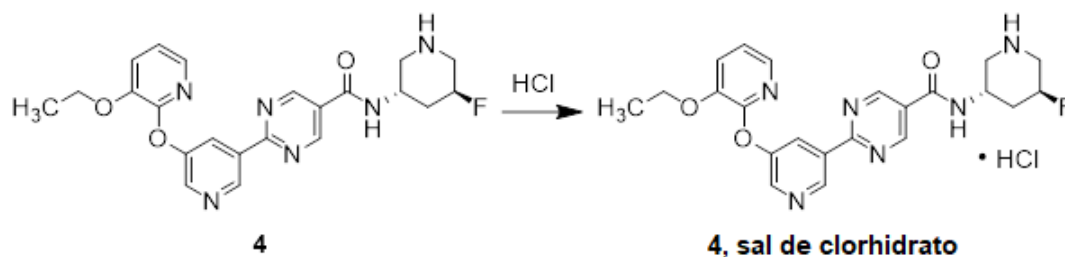
Ejemplo 4, Forma 1
Ángulo 2 θ (°) $\pm 0,2^\circ$
7,2, 14,5, 15,8, 27,7

Ejemplo 4, sal de clorhidrato

2-{5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}-N-[(3S,5S)-5-fluoropiperidin-3-il]pirimidin-5-carboxamida, sal de clorhidrato (**4**, sal de clorhidrato)



4, sal de clorhidrato

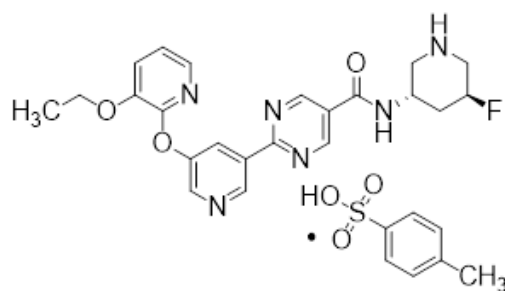


Una suspensión de 2-{5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}-N-[(3S,5S)-5-fluoropiperidin-3-il]pirimidin-5-carboxamida (4,0 g, 9,1 mmol) en acetato de etilo (40 ml) se calentó hasta aproximadamente 50 °C, después de lo cual se agregó una solución de cloruro de hidrógeno en 1,4-dioxano (4 M; 2,5 ml, 10 mmol), y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 días. Luego se filtró, y la torta de filtro se lavó dos veces con acetato de etilo caliente, para obtener 2-{5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}-N-[(3S,5S)-5-fluoropiperidin-3-il]pirimidin-5-carboxamida, sal de clorhidrato como un sólido blanco. Rendimiento: 4,1 g, 8,6 mmol, 94 %. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,90 (br d, *J* = 11 Hz, 1H), 9,39 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H), 9,35 (s, 2H), 9,26 (br d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 9,24 – 9,10 (m, 1H), 8,65 (d, *J* = 2,7 Hz, 1H), 8,37 (dd, *J* = 2,7, 1,8 Hz, 1H), 7,69 (dd, *J* = 4,8, 1,5 Hz, 1H), 7,57 (dd, *J* = 8,0, 1,5 Hz, 1H), 7,18 (dd, *J* = 8,0, 4,9 Hz, 1H), 5,23 (br d, *J*_{HF} = 45,3 Hz, 1H), 4,54 – 4,40 (m, 1H), 4,18 (q, *J* = 7,0 Hz, 2H), 3,53 – 3,41 (m, 1H), 3,39 – 3,15 (m, 2H), 3,03 – 2,88 (m, 1H), 2,35 – 2,21 (m, 1H), 2,13 – 1,90 (m, 1H), 1,37 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H).

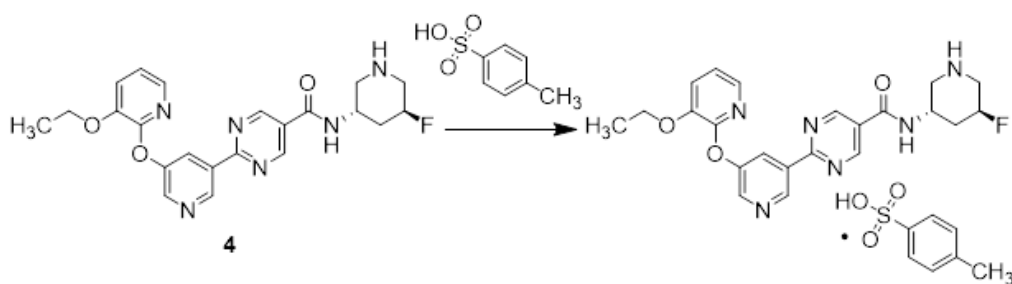
El análisis de difracción de rayos X de polvo se llevó a cabo en el sólido de este experimento usando un difractómetro Bruker AXS D4 Endeavor equipado con una fuente de radiación Cu. La rendija de divergencia se fijó a 0,6 mm mientras que el sistema secundario usó rendijas variables. La radiación difractaria se detectó mediante un detector PSD-Lynx Eye. El voltaje y el amperaje del tubo de rayos X se fijaron a 40 kV y 40 mA, respectivamente. Los datos se recolectaron en el goniómetro zeta-2zeta con una longitud de onda de Cu de 3,0 a 40,0 grados 2-zeta con un tamaño de paso de 0,020 grados y un tiempo de paso de 0,3 segundos. Las muestras se prepararon colocándolas en un portamuestras de bajo fondo de silicio y se rotaron durante la recolección. Los datos se recolectaron usando el software Bruker DIFFRAC Plus, y el análisis se realizó mediante el software EVA diffract plus. Los patrones de difracción de rayos X de polvo se proporcionan en la Figura 2.

Ejemplo 4, sal de p-toluensulfonato

2-{5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}-N-[(3S,5S)-5-fluoropiperidin-3-il]pirimidin-5-carboxamida, sal de p-toluensulfonato (4, sal de p-toluensulfonato)



4, sal de p-toluensulfonato

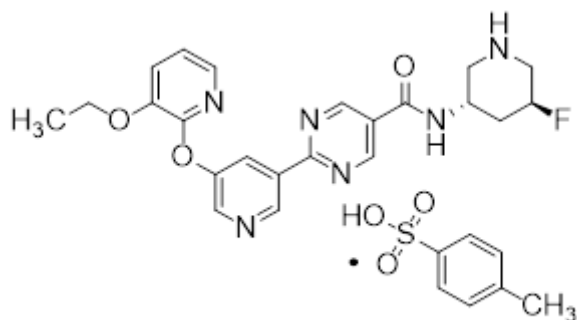


4, sal de p-toluensulfonato

Una suspensión de 2-{5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}-*N*-[(3*S*,5*S*)-5-fluoropiperidin-3-il]pirimidin-5-carboxamida (4,0 g, 9,1 mmol) en acetato de etilo (40 ml) se calentó hasta aproximadamente 50 °C, después de lo cual se agregó ácido *p*-toluensulfónico monohidrato (1,9 g, 10 mmol), y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 días. El sólido pesado resultante se rompió con una espátula, y los sólidos suspendidos se agitaron vigorosamente durante 1 día a temperatura ambiente. La filtración produjo una torta de filtro, que se lavó dos veces con acetato de etilo caliente para obtener 2-{5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}-*N*-[(3*S*,5*S*)-5-fluoropiperidin-3-il]pirimidin-5-carboxamida, sal de *p*-toluensulfonato como un sólido blanco. Rendimiento: 5,3 g, 8,7 mmol, 96 %. LCMS *m/z* 439,2 [M+H]⁺. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,40 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H), 9,28 (s, 2H), 9,24 – 9,03 (br m, 2H), 8,98 (br d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 8,65 (d, *J* = 2,7 Hz, 1H), 8,37 (dd, *J* = 2,7, 1,8 Hz, 1H), 7,68 (dd, *J* = 4,9, 1,5 Hz, 1H), 7,57 (dd, *J* = 8,0, 1,5 Hz, 1H), 7,48 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H), 7,18 (dd, *J* = 8,0, 4,8 Hz, 1H), 7,11 (d, *J* = 7,9 Hz, 2H), 5,24 (br d, *J*_{HF} = 45,1 Hz, 1H), 4,51 – 4,38 (m, 1H), 4,18 (q, *J* = 7,0 Hz, 2H), 3,59 – 3,47 (m, 1H), 3,43 – 3,17 (m, 2H), 2,98 – 2,85 (m, 1H), 2,36 – 2,24 (m, 1H), 2,28 (s, 3H), 2,06 – 1,85 (m, 1H), 1,37 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H).

Cristalización de Ejemplo 4, sal de p-toluensulfonato

2-{5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}-*N*-[(3*S*,5*S*)-5-fluoropiperidin-3-il]pirimidin-5-carboxamida, sal de *p*-toluensulfonato (**4, sal de p-toluensulfonato**)



4, sal de *p*-toluensulfonato

El tratamiento del Ejemplo 4, sal de *p*-toluensulfonato (19,1 g, 31,3 mmol) con una mezcla de agua y etanol (9:1, 300 ml) continuó con calentamiento mínimo con una pistola de calor, hasta que se obtuvo una solución. Esto se enfrió hasta temperatura ambiente durante la noche, y luego se agitó durante 24 horas adicionales, después de lo cual la relación de solvente se ajustó a aproximadamente 4:1 agua / etanol mediante adición de etanol (35 ml). La mezcla resultante se calentó hasta 85 °C para obtener una solución, que se enfrió hasta temperatura ambiente durante 3 horas y luego se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La recolección del precipitado mediante filtración produjo un sólido, que se secó en un horno de vacío que estaba equipado con purga de nitrógeno y que se había calentado previamente hasta 40 °C. Se obtuvo 2-{5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}-*N*-[(3*S*,5*S*)-5-fluoropiperidin-3-il]pirimidin-5-carboxamida, sal de *p*-toluensulfonato como un polvo blanco. Rendimiento: 11,8 g, 19,3 mmol, 62 %. LCMS *m/z* 439,2 [M+H]⁺. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,39 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H), 9,27 (s, 2H), 9,13 (br s, 2H), 8,99 (br d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 8,65 (d, *J* = 2,7 Hz, 1H), 8,37 (dd, *J* = 2,7, 1,8 Hz, 1H), 7,68 (dd, *J* = 4,8, 1,5 Hz, 1H), 7,57 (dd, *J* = 8,1, 1,5 Hz, 1H), 7,49 (br d, *J* = 8,0 Hz, 2H), 7,18 (dd, *J* = 8,0, 4,8 Hz, 1H), 7,11 (br d, *J* = 8,0 Hz, 2H), 5,24 (br d, *J*_{HF} = 45,1 Hz, 1H), 4,52 – 4,38 (m, 1H), 4,18 (q, *J* = 7,0 Hz, 2H), 3,59 – 3,47 (m, 1H), 3,44 – 3,18 (m, 2H), 2,92 (dd, *J* = 11,9, 11,8 Hz, 1H), 2,37 – 2,22 (m, 1H), 2,27 (s, 3H), 2,08 – 1,84 (m, 1H), 1,37 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H).

La mayor parte de este material (11,6 g) se combinó con otra muestra de 2-{5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}-*N*-[(3*S*,5*S*)-5-fluoropiperidin-3-il]pirimidin-5-carboxamida, sal de *p*-toluensulfonato (7,4 g); las muestras individuales exhibieron el mismo patrón de difracción mediante análisis de difracción de rayos X de polvo. La mezcla de las dos muestras produjo un sólido blanco esponjoso (19,0 g).

El análisis de difracción de rayos X de polvo se llevó a cabo en el sólido de este ejemplo usando un difractómetro Bruker AXS D8 Endeavor equipado con una fuente de radiación Cu (promedio K-α). La rendija de divergencia se estableció en 15 mm de iluminación continua. La radiación difractaria se detectó mediante un detector PSD-Lynx

Eye, con la abertura de PSD del detector configurada en 3,00 grados. El voltaje y el amperaje del tubo de rayos X se fijaron a 40 kV y 40 mA, respectivamente. Los datos se recolectaron en el goniómetro zeta-zeta con una longitud de onda de Cu de 3,0 a 40,0 grados 2-zeta con un tamaño de paso de 0,01 grados y un tiempo de paso de 1,0 segundos. El cribado antidispersión se ajustó a una distancia fija de 1,5 mm. Las muestras se sometieron a 15 rotaciones/min durante la recolección. Las muestras se prepararon colocándolas en un portamuestras de bajo fondo de silicio y se rotaron durante la recolección.

Los datos se recolectaron usando el software Bruker DIFFRAC Plus, y el análisis se realizó mediante el software EVA diffract plus. El archivo de datos de PXRD no se procesó antes de la búsqueda de picos. Usando el algoritmo de búsqueda de picos en el software EVA, los picos seleccionados con un valor umbral de 1 se usaron para realizar asignaciones de picos preliminares. Para garantizar la validez, los ajustes se realizaron manualmente; el resultado de las asignaciones automatizadas se verificó visualmente y las posiciones de picos se ajustaron al máximo de picos. En general, se eligieron los picos con intensidad relativa ≥ 3 %. No se seleccionaron los picos que no se resolvieron o que coincidían con el ruido. Un error típico asociado a la posición de los picos de PXRD indicado en USP hasta $\pm 0,2^\circ$ 2 θ (USP-941). Se prevé alguna variación con respecto a las alturas de picos en función de cambios con tamaños y morfologías de cristales. Los patrones de difracción de rayos X de polvo se proporcionan en la Figura 3. Los datos de PXRD de esta figura se describen también más adelante.

Tabla C: Picos de PXRD para el material cristalino del Ejemplo 4, sal de p-toluensulfonato, Forma 1

Ángulo 2 θ (°)	Intensidad relativa (%)	Ángulo 2 θ (°)	Intensidad relativa (%)	Ángulo 2 θ (°)	Intensidad relativa (%)
3,8	74	19,5	50	26,7	23
7,7	26	19,9	12	27,3	7
8,8	48	20,2	51	27,7	47
9,2	38	20,5	21	28,3	27
10,9	39	20,8	5	28,7	10
11,5	19	21,4	53	29,3	6
13,8	33	21,6	29	29,8	12
14,5	19	21,9	38	31,0	12
14,9	10	22,4	100	31,5	10
15,4	55	22,7	63	32,0	7
16,4	25	23,1	83	32,5	6
16,7	69	23,6	7	32,7	5
16,9	27	23,9	20	35,0	5
17,6	67	24,2	18	35,7	10
17,9	42	24,6	52	37,2	4
18,2	42	25,2	41	37,6	3
18,4	36	25,4	18	38,0	5

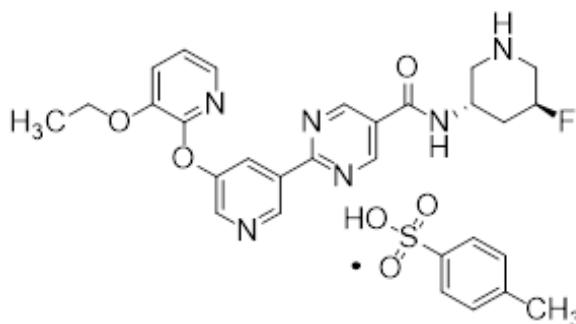
Ángulo 2 Θ (°)	Intensidad relativa (%)	Ángulo 2 Θ (°)	Intensidad relativa (%)	Ángulo 2 Θ (°)	Intensidad relativa (%)
18,8	8	26,0	44	25,9	38
19,0	12	26,4	11	36,7	4

Tabla D: Picos de PXRD clave para caracterizar el material cristalino del Ejemplo 1, sal de p-toluensulfonato, Forma 1

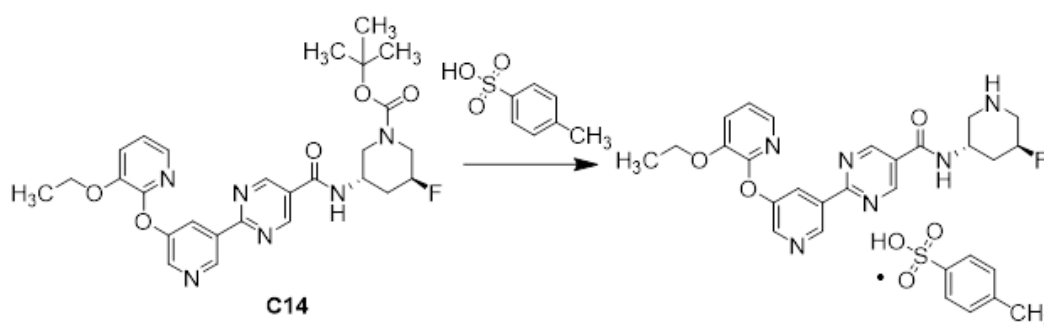
Ejemplo 4, sal de p-toluensulfonato, Forma 1
Ángulo 2 Θ (°) $\pm$ 0,2°
3,8, 7,7, 8,8, 22,4, 24,6

Síntesis alternativa del Ejemplo 4, sal de p-toluensulfonato

2-{5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}-N-[(3S,5S)-5-fluoropiperidin-3-il]pirimidin-5-carboxamida, sal de p-toluensulfonato (**4**, sal de p-toluensulfonato)



4, sal de p-toluensulfonato



4, sal de p-toluensulfonato

Una solución de **C14** (9,47 g, 17,6 mmol), ácido *p*-toluensulfónico monohidrato (98 %, 3,58 g, 18,4 mmol) y agua (4,74 ml, 263 mmol) en acetonitrilo (90,0 ml) se calentó hasta 90 °C durante 10 minutos (temperatura de reacción interna 76 °C). Después de 12 horas, la mezcla de reacción se enfrió hasta 25 °C durante 10 minutos, y se mantuvo a 25 °C durante la noche. Luego, se enfrió hasta 10 °C y se filtró. La torta de filtro se enjuagó dos veces con 1 volumen de una mezcla de 95:5 acetonitrilo / agua que se enfrió hasta 10 °C, para obtener 2-{5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}-N-[(3S,5S)-5-fluoropiperidin-3-il]pirimidin-5-carboxamida, sal de *p*-toluensulfonato como un sólido amarillo. Rendimiento: 8,30 g, 13,6 mmol, 77 %. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,40

(d, $J = 1,8$ Hz, 1H), 9,27 (s, 2H), 9,17 – 9,07 (br s, 2H), 8,97 (br d, $J = 7,6$ Hz, 1H), 8,65 (d, $J = 2,7$ Hz, 1H), 8,37 (dd, $J = 2,7, 1,7$ Hz, 1H), 7,68 (dd, $J = 4,9, 1,5$ Hz, 1H), 7,57 (dd, $J = 8,0, 1,5$ Hz, 1H), 7,47 (br d, $J = 8,0$ Hz, 2H), 7,18 (dd, $J = 7,9, 4,9$ Hz, 1H), 7,11 (br d, $J = 7,9$ Hz, 2H), 5,24 (br d, $J_{\text{HF}} = 45,1$ Hz, 1H), 4,52 – 4,38 (m, 1H), 4,18 (q, $J = 7,0$ Hz, 2H), 3,59 – 3,47 (m, 1H), 3,44 – 3,19 (m, 2H), 2,90 (dd, $J = 11,8, 11,8$ Hz, 1H), 2,36 – 2,25 (m, 1H), 2,28 (s, 3H), 2,06 – 1,84 (m, 1H), 1,37 (t, $J = 7,0$ Hz, 3H).

*Determinación estructural de **Ejemplo 4, sal de p-toluensulfonato** mediante rayos X de un solo cristal*

La cristalización del **Ejemplo 4, sal de p-toluensulfonato** (10 mg) de etanol (3 ml), con difusión lenta de tolueno y agua (1:1), produjo un cristal adecuado para determinación estructural mediante rayos X.

Análisis de rayos X de un solo cristal

La recolección de datos se realizó en un difractómetro Bruker D8 Venture a -100 °C. La recolección de datos consistió en escaneos omega y escaneos phi.

La estructura se resolvió mediante fase intrínseca usando el software de suite SHELX en el grupo espacial triclinico P1 como dos moléculas por unidad asimétrica. La estructura se refinó posteriormente mediante el método de mínimos cuadrados de matriz entera. Todos los átomos que no son de hidrógeno se hallaron y se refinaron usando parámetros de desplazamiento anisotrópico.

Los átomos de hidrógeno ubicados en nitrógeno y oxígeno se descubrieron del mapa de diferencias de Fourier y se refinaron con distancias restringidas. Los átomos de hidrógeno restantes se colocaron en posiciones calculadas y se transportaron en sus átomos portadores. El refinamiento final incluyó parámetros de desplazamiento isotrópico para todos los átomos de hidrógeno.

Sal de tosilato de cristalización confirmada

El refinamiento fue complicado debido a la baja ocupación de etanol que reposaba en canales y también debido a la calidad marginal de partículas prismáticas cristalinas que se observaron como placas apiladas (ver imagen de PLM). En función de la incorporación de etanol confirmada mediante experimentos de RMN, se refinó el modelo molecular con dos entidades de etanol cada una mediante ocupación del 0,33.

El análisis de la estructura absoluta usando métodos de probabilidad (Hooft 2008) se llevó a cabo usando PLATON (Spek 2010). Suponiendo que la muestra presentada es enantiopura, los resultados indican que la estructura absoluta fue correctamente asignada. El método calcula que la probabilidad de que la estructura sea correctamente asignada es del 100 %. El parámetro Hooft se informó como 0,075 con

un Esd de (4) y el parámetro de Parson se informó como 0,087 con un Esd de (5).

Configuración absoluta diana en C18_C21 / C40_C43 confirmada como (-S)_(-S) / (-S)_(-S) para ambas moléculas idénticas por unidad asimétrica.

El cristal pertinente, la recolección de datos y la información de refinamiento se resumen en la Tabla D1. Las coordenadas atómicas, las longitudes de enlace, los ángulos de enlace y los parámetros de desplazamiento se enumeran en las Tablas D2 – D4.

Software y referencias

SHELXTL, versión 5,1, Bruker AXS, 1997.

PLATON, A. L. Spek, *J. Appl. Cryst.* **2003**, 36, 7-13.

MERCURY, C. F. Macrae, P. R. Edington, P. McCabe, E. Pidcock, G. P. Shields, R. Taylor, M. Towler y J. van de Streek, *J. Appl. Cryst.* **2006**, 39, 453-457.

OLEX2, O. V. Dolomanov, L. J. Bourhis, R. J. Gildea, J. A. K. Howard, y H. Puschmann, *J. Appl. Cryst.* **2009**, 42, 339-341.

R. W. W. Hooft, L. H. Straver y A. L. Spek, *J. Appl. Cryst.* **2008**, 41, 96-103.

H. D. Flack, *Acta Cryst.* **1983**, A39, 867-881.

Tabla D1. Datos del cristal y refinamiento estructural para el **Ejemplo 4, sal de p-toluensulfonato**.

Fórmula empírica	C _{29.67} H ₃₃ F N ₆ O _{6.33} S	
Peso de la fórmula	626,00	
Temperatura	296(2) K	
Longitud de onda	1,54178 Å	
Sistema de cristal	Triclínico	
Grupo espacial	P1	
Dimensiones de la celda unitaria	a = 6,9545(4) Å	α = 83,178(2)°.
	b = 10,1175(6) Å	β = 83,176(2)°.
	c = 24,8467(15) Å	γ = 70,487(2)°.
Volumen	1630,33(17) Å ³	
Z	2	
Densidad (calculada)	1,275 mg/m ³	
Coeficiente de absorción	1,364 mm ⁻¹	
F(000)	657,3	
Tamaño del cristal	0,340 x 0,260 x 0,180 mm ³	
Rango zeta para recolección de datos	6,778 a 72,343°.	

Rangos de índice	-8<=h<=8, -10<=k<=12, -30<=l<=30
Reflexiones recolectadas	29135
Reflexiones independientes	10147 [R(int) = 0,0194]
Compleción hasta zeta = 67,679°	94,3 %
Corrección de absorción	Empírico
Método de refinamiento	Mínimos cuadrados de matriz entera en F2
Datos / limitaciones / parámetros	10147 / 13 / 855
Bondad del ajuste en F2	1,060
Índices R finales [$I > 2\sigma(I)$]	R1 = 0,0417, wR2 = 0,1220
Índices R (todos los datos)	R1 = 0,0424, wR2 = 0,1232
Parámetro de estructura absoluto	0,073(4)
Coefficiente de extinción	n/a
Diferencia máxima pico y valle	0,362 y -0,298 e.Å ⁻³

Tabla D2. Coordenadas atómicas ($\times 10^4$) y parámetros de desplazamiento isotrópico equivalentes ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) para el **Ejemplo 4, sal de p-toluensulfonato**. U(eq) se define como un tercio de la traza del tensor U^{ij} ortogonalizado.

	x	y	z	U(eq)
S(1)	-504(1)	9393(1)	6147(1)	56(1)
S(2)	9899(1)	723(1)	3887(1)	55(1)
F(1)	6010(4)	5903(2)	4063(1)	76(1)
F(2)	1076(4)	4209(2)	5953(1)	76(1)
N(1)	-73(4)	8526(3)	9140(1)	57(1)
N(2)	5643(4)	5070(3)	9141(1)	50(1)
N(3)	6364(5)	4830(3)	7460(1)	51(1)
N(4)	5074(4)	7330(3)	7319(1)	48(1)
N(5)	6710(4)	6840(3)	5637(1)	47(1)
N(6)	8253(4)	7736(3)	4185(1)	49(1)
N(7)	10069(4)	1597(3)	880(2)	56(1)
N(8)	4367(4)	5049(3)	882(1)	49(1)
N(9)	3437(5)	5273(3)	2563(1)	51(1)
N(10)	4605(4)	2768(3)	2693(1)	49(1)
N(11)	4065(4)	3245(3)	4389(1)	47(1)
N(12)	5166(5)	2326(3)	5844(1)	50(1)

O(1)	1301(3)	11465(2)	9415(1)	52(1)
O(2)	3013(3)	8817(2)	9228(1)	49(1)
O(3)	6096(4)	4779(2)	5794(1)	60(1)
O(4)	8707(3)	-1350(2)	609(1)	53(1)
O(5)	6972(3)	1302(2)	796(1)	50(1)
O(6)	1531(4)	5290(2)	4222(1)	60(1)
O(7)	1453(7)	9131(5)	5849(2)	111(2)
O(8)	-2111(6)	9139(3)	5888(1)	78(1)
O(9)	-1262(5)	10812(3)	6314(1)	72(1)
O(10)	7844(5)	1001(3)	4148(1)	82(1)
O(11)	11371(8)	981(5)	4181(2)	111(2)
O(12)	10637(4)	-704(3)	3720(1)	71(1)
C(1)	17(4)	10769(3)	9335(1)	42(1)
C(2)	385(5)	12923(3)	9510(2)	60(1)
C(3)	2066(7)	13492(5)	9570(3)	79(1)
C(4)	-2095(5)	11305(4)	9354(2)	54(1)
C(5)	-3181(5)	10433(4)	9267(2)	66(1)
C(6)	-2143(6)	9064(4)	9163(2)	66(1)
C(7)	910(4)	9349(3)	9230(1)	41(1)
C(8)	3933(4)	7539(3)	8998(1)	43(1)
C(9)	4660(5)	6310(3)	9334(1)	46(1)
C(10)	5913(5)	5041(3)	8601(2)	46(1)
C(11)	5266(4)	6213(3)	8231(1)	42(1)
C(12)	4248(5)	7504(3)	8445(1)	45(1)
C(13)	5598(5)	6114(3)	7638(1)	44(1)
C(14)	6592(6)	4772(3)	6928(2)	52(1)
C(15)	6094(5)	5955(3)	6560(1)	46(1)
C(16)	5334(5)	7234(3)	6789(2)	49(1)
C(17)	6305(5)	5808(3)	5964(1)	47(1)
C(18)	6865(5)	6816(3)	5048(1)	44(1)
C(19)	8066(5)	7774(3)	4790(1)	49(1)
C(20)	6234(6)	8182(4)	3948(2)	62(1)
C(21)	4982(6)	7279(4)	4213(2)	61(1)
C(22)	4761(5)	7240(4)	4826(2)	54(1)
C(23)	9990(4)	-646(3)	683(1)	42(1)

C(24)	9627(6)	-2816(3)	515(2)	58(1)
C(25)	7950(7)	-3368(5)	458(3)	82(1)
C(26)	12095(5)	-1180(4)	671(2)	53(1)
C(27)	13184(5)	-289(4)	753(2)	66(1)
C(28)	12139(6)	1052(5)	860(2)	71(1)
C(29)	9074(4)	774(3)	795(1)	42(1)
C(30)	6040(4)	2583(3)	1023(1)	43(1)
C(31)	5379(5)	3789(3)	690(1)	46(1)
C(32)	4037(5)	5082(3)	1420(1)	45(1)
C(33)	4644(4)	3893(3)	1787(1)	42(1)
C(34)	5672(5)	2610(3)	1578(1)	45(1)
C(35)	4214(4)	3979(3)	2386(1)	43(1)
C(36)	3062(5)	5326(3)	3095(2)	51(1)
C(37)	3433(5)	4131(3)	3460(1)	45(1)
C(38)	4218(5)	2848(3)	3230(2)	50(1)
C(39)	2939(5)	4261(3)	4052(1)	46(1)
C(40)	3668(5)	3271(3)	4976(1)	43(1)
C(41)	5543(5)	2290(3)	5240(1)	48(1)
C(42)	3344(7)	1911(4)	6069(2)	63(1)
C(43)	1487(6)	2828(4)	5803(2)	62(1)
C(44)	1772(5)	2867(4)	5191(2)	56(1)
C(45)	-135(5)	8251(4)	6752(2)	49(1)
C(46)	-589(7)	8761(5)	7248(2)	70(1)
C(47)	-273(8)	7839(6)	7713(2)	76(1)
C(48)	474(7)	6399(6)	7686(2)	75(1)
C(49)	775(9)	5426(8)	8202(3)	111(2)
C(50)	911(7)	5909(5)	7175(2)	75(1)
C(51)	632(6)	6808(4)	6712(2)	59(1)
C(52)	9677(5)	1870(4)	3286(2)	50(1)
C(53)	8944(6)	3304(4)	3324(2)	60(1)
C(54)	8775(6)	4199(4)	2853(2)	70(1)
C(55)	9315(6)	3696(6)	2349(2)	76(1)
C(56)	9112(9)	4698(8)	1836(3)	112(3)
C(57)	10049(8)	2253(7)	2315(2)	81(1)
C(58)	10221(7)	1346(5)	2782(2)	67(1)

O(13)	6240(40)	9576(13)	2638(6)	181(10)
C(60)	7290(60)	8670(18)	2244(7)	240(30)
C(59)	8830(30)	7950(20)	2701(10)	138(9)
O(14)	1850(40)	1387(18)	7804(9)	193(12)
C(62)	3900(40)	1300(20)	7773(11)	126(8)
C(61)	4670(30)	2131(18)	7343(8)	103(6)

Tabla D3. Longitudes [Å] y ángulos [°] de enlace para **Ejemplo 4, sal de p-toluensulfonato**

S(1)-O(7)	1,427(4)
S(1)-O(9)	1,447(3)
S(1)-O(8)	1,460(3)
S(1)-C(45)	1,772(4)
S(2)-O(11)	1,432(4)
S(2)-O(10)	1,448(3)
S(2)-O(12)	1,456(3)
S(2)-C(52)	1,768(4)
F(1)-C(21)	1,408(4)
F(2)-C(43)	1,416(4)
N(1)-C(7)	1,293(4)
N(1)-C(6)	1,355(5)
N(2)-C(9)	1,328(4)
N(2)-C(10)	1,334(5)
N(3)-C(14)	1,319(5)
N(3)-C(13)	1,337(4)
N(4)-C(16)	1,319(5)
N(4)-C(13)	1,346(4)
N(5)-C(17)	1,331(4)
N(5)-C(18)	1,457(4)
N(5)-H(5X)	0,96(2)
N(6)-C(19)	1,496(4)
N(6)-C(20)	1,494(5)
N(6)-H(6X)	0,96(2)
N(6)-H(6Y)	0,98(2)

N(7)-C(29)	1,296(4)
N(7)-C(28)	1,356(5)
N(8)-C(32)	1,333(5)
N(8)-C(31)	1,346(4)
N(9)-C(36)	1,321(5)
N(9)-C(35)	1,345(4)
N(10)-C(35)	1,328(4)
N(10)-C(38)	1,335(5)
N(11)-C(39)	1,336(4)
N(11)-C(40)	1,452(4)
N(11)-H(11X)	0,96(2)
N(12)-C(42)	1,492(5)
N(12)-C(41)	1,496(4)
N(12)-H(12X)	0,98(2)
N(12)-H(12Y)	0,98(2)
O(1)-C(1)	1,352(4)
O(1)-C(2)	1,434(4)
O(2)-C(7)	1,379(4)
O(2)-C(8)	1,393(4)
O(3)-C(17)	1,226(4)
O(4)-C(23)	1,354(4)
O(4)-C(24)	1,441(4)
O(5)-C(29)	1,378(4)
O(5)-C(30)	1,394(3)
O(6)-C(39)	1,242(4)
C(1)-C(4)	1,382(4)
C(1)-C(7)	1,405(4)
C(2)-C(3)	1,494(6)
C(2)-H(2A)	0,9700
C(2)-H(2B)	0,9700
C(3)-H(3A)	0,9600
C(3)-H(3B)	0,9600
C(3)-H(3C)	0,9600
C(4)-C(5)	1,388(5)
C(4)-H(4)	0,9300

C(5)-C(6)	1,371(6)
C(5)-H(5)	0,9300
C(6)-H(6)	0,9300
C(8)-C(12)	1,369(5)
C(8)-C(9)	1,391(5)
C(9)-H(9)	0,9300
C(10)-C(11)	1,391(5)
C(10)-H(10)	0,9300
C(11)-C(12)	1,396(4)
C(11)-C(13)	1,474(5)
C(12)-H(12)	0,9300
C(14)-C(15)	1,387(5)
C(14)-H(14)	0,9300
C(15)-C(16)	1,386(5)
C(15)-C(17)	1,491(5)
C(16)-H(16)	0,9300
C(18)-C(19)	1,521(4)
C(18)-C(22)	1,531(5)
C(18)-H(18)	0,9800
C(19)-H(19A)	0,9700
C(19)-H(19B)	0,9700
C(20)-C(21)	1,509(6)
C(20)-H(20A)	0,9700
C(20)-H(20B)	0,9700
C(21)-C(22)	1,510(6)
C(21)-H(21)	0,9800
C(22)-H(22A)	0,9700
C(22)-H(22B)	0,9700
C(23)-C(26)	1,379(4)
C(23)-C(29)	1,409(4)
C(24)-C(25)	1,479(6)
C(24)-H(24A)	0,9700
C(24)-H(24B)	0,9700
C(25)-H(25A)	0,9600
C(25)-H(25B)	0,9600

C(25)-H(25C)	0,9600
C(26)-C(27)	1,402(5)
C(26)-H(26)	0,9300
C(27)-C(28)	1,349(6)
C(27)-H(27)	0,9300
C(28)-H(28)	0,9300
C(30)-C(31)	1,363(5)
C(30)-C(34)	1,375(5)
C(31)-H(31)	0,9300
C(32)-C(33)	1,396(5)
C(32)-H(32)	0,9300
C(33)-C(34)	1,384(4)
C(33)-C(35)	1,488(5)
C(34)-H(34)	0,9300
C(36)-C(37)	1,392(5)
C(36)-H(36)	0,9300
C(37)-C(38)	1,393(4)
C(37)-C(39)	1,481(5)
C(38)-H(38)	0,9300
C(40)-C(41)	1,517(4)
C(40)-C(44)	1,528(4)
C(40)-H(40)	0,9800
C(41)-H(41A)	0,9700
C(41)-H(41B)	0,9700
C(42)-C(43)	1,491(6)
C(42)-H(42A)	0,9700
C(42)-H(42B)	0,9700
C(43)-C(44)	1,508(6)
C(43)-H(43)	0,9800
C(44)-H(44A)	0,9700
C(44)-H(44B)	0,9700
C(45)-C(46)	1,356(6)
C(45)-C(51)	1,387(5)
C(46)-C(47)	1,386(7)
C(46)-H(46)	0,9300

C(47)-C(48)	1,381(8)
C(47)-H(47)	0,9300
C(48)-C(50)	1,380(8)
C(48)-C(49)	1,512(6)
C(49)-H(49A)	0,9600
C(49)-H(49B)	0,9600
C(49)-H(49C)	0,9600
C(50)-C(51)	1,369(6)
C(50)-H(50)	0,9300
C(51)-H(51)	0,9300
C(52)-C(53)	1,380(5)
C(52)-C(58)	1,380(6)
C(53)-C(54)	1,385(6)
C(53)-H(53)	0,9300
C(54)-C(55)	1,371(8)
C(54)-H(54)	0,9300
C(55)-C(57)	1,386(8)
C(55)-C(56)	1,521(6)
C(56)-H(56A)	0,9600
C(56)-H(56B)	0,9600
C(56)-H(56C)	0,9600
C(57)-C(58)	1,380(7)
C(57)-H(57)	0,9300
C(58)-H(58)	0,9300
O(13)-C(60)	1,39(2)
O(13)-H(13)	0,8359
C(60)-C(59)	1,59(2)
C(60)-H(60A)	0,9700
C(60)-H(60B)	0,9700
C(59)-H(59A)	0,9651
C(59)-H(59B)	0,9648
C(59)-H(59C)	0,9651
O(14)-C(62)	1,39(2)
O(14)-H(14A)	0,9219
C(62)-C(61)	1,44(2)

C(62)-H(62A)	0,9700
C(62)-H(62B)	0,9700
C(61)-H(61A)	0,9600
C(61)-H(61B)	0,9600
C(61)-H(61C)	0,9600

O(7)-S(1)-O(9)	110,8(3)
O(7)-S(1)-O(8)	117,4(3)
O(9)-S(1)-O(8)	108,60(18)
O(7)-S(1)-C(45)	106,8(2)
O(9)-S(1)-C(45)	106,46(18)
O(8)-S(1)-C(45)	106,22(17)
O(11)-S(2)-O(10)	117,1(3)
O(11)-S(2)-O(12)	111,1(3)
O(10)-S(2)-O(12)	108,98(19)
O(11)-S(2)-C(52)	106,2(2)
O(10)-S(2)-C(52)	106,09(17)
O(12)-S(2)-C(52)	106,79(18)
C(7)-N(1)-C(6)	117,5(3)
C(9)-N(2)-C(10)	117,1(3)
C(14)-N(3)-C(13)	116,4(3)
C(16)-N(4)-C(13)	116,8(3)
C(17)-N(5)-C(18)	120,8(3)
C(17)-N(5)-H(5X)	113(2)
C(18)-N(5)-H(5X)	126(2)
C(19)-N(6)-C(20)	113,4(3)
C(19)-N(6)-H(6X)	106(2)
C(20)-N(6)-H(6X)	115(3)
C(19)-N(6)-H(6Y)	107(2)
C(20)-N(6)-H(6Y)	112(2)
H(6X)-N(6)-H(6Y)	103(4)
C(29)-N(7)-C(28)	117,6(3)
C(32)-N(8)-C(31)	117,0(3)
C(36)-N(9)-C(35)	116,1(3)
C(35)-N(10)-C(38)	116,7(3)

C(39)-N(11)-C(40)	121,4(3)
C(39)-N(11)-H(11X)	119(2)
C(40)-N(11)-H(11X)	119(2)
C(42)-N(12)-C(41)	112,7(3)
C(42)-N(12)-H(12X)	111(3)
C(41)-N(12)-H(12X)	111(2)
C(42)-N(12)-H(12Y)	111(3)
C(41)-N(12)-H(12Y)	109(2)
H(12X)-N(12)-H(12Y)	103(4)
C(1)-O(1)-C(2)	116,7(2)
C(7)-O(2)-C(8)	115,5(2)
C(23)-O(4)-C(24)	116,9(2)
C(29)-O(5)-C(30)	115,7(2)
O(1)-C(1)-C(4)	126,7(3)
O(1)-C(1)-C(7)	116,9(3)
C(4)-C(1)-C(7)	116,4(3)
O(1)-C(2)-C(3)	107,9(3)
O(1)-C(2)-H(2A)	110,1
C(3)-C(2)-H(2A)	110,1
O(1)-C(2)-H(2B)	110,1
C(3)-C(2)-H(2B)	110,1
H(2A)-C(2)-H(2B)	108,4
C(2)-C(3)-H(3A)	109,5
C(2)-C(3)-H(3B)	109,5
H(3A)-C(3)-H(3B)	109,5
C(2)-C(3)-H(3C)	109,5
H(3A)-C(3)-H(3C)	109,5
H(3B)-C(3)-H(3C)	109,5
C(1)-C(4)-C(5)	119,0(3)
C(1)-C(4)-H(4)	120,5
C(5)-C(4)-H(4)	120,5
C(6)-C(5)-C(4)	119,5(3)
C(6)-C(5)-H(5)	120,2
C(4)-C(5)-H(5)	120,2
N(1)-C(6)-C(5)	122,1(3)

N(1)-C(6)-H(6)	119,0
C(5)-C(6)-H(6)	118,9
N(1)-C(7)-O(2)	118,8(3)
N(1)-C(7)-C(1)	125,5(3)
O(2)-C(7)-C(1)	115,8(2)
C(12)-C(8)-C(9)	120,0(3)
C(12)-C(8)-O(2)	120,3(3)
C(9)-C(8)-O(2)	119,6(3)
N(2)-C(9)-C(8)	122,6(3)
N(2)-C(9)-H(9)	118,7
C(8)-C(9)-H(9)	118,7
N(2)-C(10)-C(11)	124,8(3)
N(2)-C(10)-H(10)	117,6
C(11)-C(10)-H(10)	117,6
C(10)-C(11)-C(12)	117,0(3)
C(10)-C(11)-C(13)	122,3(3)
C(12)-C(11)-C(13)	120,7(3)
C(8)-C(12)-C(11)	118,6(3)
C(8)-C(12)-H(12)	120,7
C(11)-C(12)-H(12)	120,7
N(3)-C(13)-N(4)	125,2(3)
N(3)-C(13)-C(11)	117,7(3)
N(4)-C(13)-C(11)	117,1(3)
N(3)-C(14)-C(15)	123,4(3)
N(3)-C(14)-H(14)	118,3
C(15)-C(14)-H(14)	118,3
C(16)-C(15)-C(14)	115,5(3)
C(16)-C(15)-C(17)	124,0(3)
C(14)-C(15)-C(17)	120,5(3)
N(4)-C(16)-C(15)	122,7(3)
N(4)-C(16)-H(16)	118,7
C(15)-C(16)-H(16)	118,6
O(3)-C(17)-N(5)	122,7(3)
O(3)-C(17)-C(15)	120,4(3)
N(5)-C(17)-C(15)	116,8(3)

N(5)-C(18)-C(19)	108,8(2)
N(5)-C(18)-C(22)	112,1(3)
C(19)-C(18)-C(22)	111,3(3)
N(5)-C(18)-H(18)	108,2
C(19)-C(18)-H(18)	108,2
C(22)-C(18)-H(18)	108,2
N(6)-C(19)-C(18)	108,9(3)
N(6)-C(19)-H(19A)	109,9
C(18)-C(19)-H(19A)	109,9
N(6)-C(19)-H(19B)	109,9
C(18)-C(19)-H(19B)	109,9
H(19A)-C(19)-H(19B)	108,3
N(6)-C(20)-C(21)	109,9(3)
N(6)-C(20)-H(20A)	109,7
C(21)-C(20)-H(20A)	109,7
N(6)-C(20)-H(20B)	109,7
C(21)-C(20)-H(20B)	109,7
H(20A)-C(20)-H(20B)	108,2
F(1)-C(21)-C(22)	108,5(3)
F(1)-C(21)-C(20)	106,9(3)
C(22)-C(21)-C(20)	113,1(3)
F(1)-C(21)-H(21)	109,5
C(22)-C(21)-H(21)	109,4
C(20)-C(21)-H(21)	109,4
C(21)-C(22)-C(18)	110,5(3)
C(21)-C(22)-H(22A)	109,6
C(18)-C(22)-H(22A)	109,6
C(21)-C(22)-H(22B)	109,6
C(18)-C(22)-H(22B)	109,6
H(22A)-C(22)-H(22B)	108,1
O(4)-C(23)-C(26)	126,7(3)
O(4)-C(23)-C(29)	116,6(2)
C(26)-C(23)-C(29)	116,7(3)
O(4)-C(24)-C(25)	107,4(3)
O(4)-C(24)-H(24A)	110,2

C(25)-C(24)-H(24A)	110,3
O(4)-C(24)-H(24B)	110,2
C(25)-C(24)-H(24B)	110,2
H(24A)-C(24)-H(24B)	108,5
C(24)-C(25)-H(25A)	109,5
C(24)-C(25)-H(25B)	109,5
H(25A)-C(25)-H(25B)	109,5
C(24)-C(25)-H(25C)	109,5
H(25A)-C(25)-H(25C)	109,5
H(25B)-C(25)-H(25C)	109,5
C(23)-C(26)-C(27)	118,9(3)
C(23)-C(26)-H(26)	120,5
C(27)-C(26)-H(26)	120,5
C(28)-C(27)-C(26)	119,1(3)
C(28)-C(27)-H(27)	120,4
C(26)-C(27)-H(27)	120,5
C(27)-C(28)-N(7)	123,0(3)
C(27)-C(28)-H(28)	118,5
N(7)-C(28)-H(28)	118,5
N(7)-C(29)-O(5)	119,2(3)
N(7)-C(29)-C(23)	124,7(3)
O(5)-C(29)-C(23)	116,1(3)
C(31)-C(30)-C(34)	120,5(3)
C(31)-C(30)-O(5)	119,6(3)
C(34)-C(30)-O(5)	119,8(3)
N(8)-C(31)-C(30)	122,7(3)
N(8)-C(31)-H(31)	118,7
C(30)-C(31)-H(31)	118,7
N(8)-C(32)-C(33)	123,8(3)
N(8)-C(32)-H(32)	118,1
C(33)-C(32)-H(32)	118,1
C(34)-C(33)-C(32)	117,9(3)
C(34)-C(33)-C(35)	120,3(3)
C(32)-C(33)-C(35)	121,8(3)
C(30)-C(34)-C(33)	118,2(3)

C(30)-C(34)-H(34)	120,9
C(33)-C(34)-H(34)	120,9
N(10)-C(35)-N(9)	126,1(3)
N(10)-C(35)-C(33)	116,9(3)
N(9)-C(35)-C(33)	117,0(3)
N(9)-C(36)-C(37)	123,1(3)
N(9)-C(36)-H(36)	118,4
C(37)-C(36)-H(36)	118,4
C(36)-C(37)-C(38)	115,8(3)
C(36)-C(37)-C(39)	120,5(3)
C(38)-C(37)-C(39)	123,7(3)
N(10)-C(38)-C(37)	122,1(3)
N(10)-C(38)-H(38)	118,9
C(37)-C(38)-H(38)	118,9
O(6)-C(39)-N(11)	122,1(3)
O(6)-C(39)-C(37)	120,3(3)
N(11)-C(39)-C(37)	117,5(3)
N(11)-C(40)-C(41)	108,7(2)
N(11)-C(40)-C(44)	112,3(3)
C(41)-C(40)-C(44)	110,7(3)
N(11)-C(40)-H(40)	108,4
C(41)-C(40)-H(40)	108,3
C(44)-C(40)-H(40)	108,3
N(12)-C(41)-C(40)	109,2(3)
N(12)-C(41)-H(41A)	109,8
C(40)-C(41)-H(41A)	109,8
N(12)-C(41)-H(41B)	109,8
C(40)-C(41)-H(41B)	109,8
H(41A)-C(41)-H(41B)	108,3
C(43)-C(42)-N(12)	110,3(3)
C(43)-C(42)-H(42A)	109,6
N(12)-C(42)-H(42A)	109,6
C(43)-C(42)-H(42B)	109,6
N(12)-C(42)-H(42B)	109,6
H(42A)-C(42)-H(42B)	108,1

F(2)-C(43)-C(42)	107,2(3)
F(2)-C(43)-C(44)	108,3(3)
C(42)-C(43)-C(44)	113,0(3)
F(2)-C(43)-H(43)	109,4
C(42)-C(43)-H(43)	109,4
C(44)-C(43)-H(43)	109,4
C(43)-C(44)-C(40)	110,5(3)
C(43)-C(44)-H(44A)	109,6
C(40)-C(44)-H(44A)	109,6
C(43)-C(44)-H(44B)	109,6
C(40)-C(44)-H(44B)	109,5
H(44A)-C(44)-H(44B)	108,1
C(46)-C(45)-C(51)	119,8(4)
C(46)-C(45)-S(1)	121,2(3)
C(51)-C(45)-S(1)	119,0(3)
C(45)-C(46)-C(47)	119,8(4)
C(45)-C(46)-H(46)	120,1
C(47)-C(46)-H(46)	120,1
C(48)-C(47)-C(46)	121,6(5)
C(48)-C(47)-H(47)	119,2
C(46)-C(47)-H(47)	119,2
C(47)-C(48)-C(50)	117,4(4)
C(47)-C(48)-C(49)	120,0(6)
C(50)-C(48)-C(49)	122,6(6)
C(48)-C(49)-H(49A)	109,5
C(48)-C(49)-H(49B)	109,5
H(49A)-C(49)-H(49B)	109,5
C(48)-C(49)-H(49C)	109,5
H(49A)-C(49)-H(49C)	109,5
H(49B)-C(49)-H(49C)	109,5
C(51)-C(50)-C(48)	121,7(4)
C(51)-C(50)-H(50)	119,2
C(48)-C(50)-H(50)	119,2
C(50)-C(51)-C(45)	119,8(4)
C(50)-C(51)-H(51)	120,1

C(45)-C(51)-H(51)	120,1
C(53)-C(52)-C(58)	120,0(4)
C(53)-C(52)-S(2)	119,2(3)
C(58)-C(52)-S(2)	120,8(3)
C(52)-C(53)-C(54)	119,1(4)
C(52)-C(53)-H(53)	120,5
C(54)-C(53)-H(53)	120,5
C(55)-C(54)-C(53)	121,7(4)
C(55)-C(54)-H(54)	119,1
C(53)-C(54)-H(54)	119,2
C(54)-C(55)-C(57)	118,7(4)
C(54)-C(55)-C(56)	120,8(6)
C(57)-C(55)-C(56)	120,5(6)
C(55)-C(56)-H(56A)	109,5
C(55)-C(56)-H(56B)	109,5
H(56A)-C(56)-H(56B)	109,5
C(55)-C(56)-H(56C)	109,5
H(56A)-C(56)-H(56C)	109,5
H(56B)-C(56)-H(56C)	109,5
C(58)-C(57)-C(55)	120,3(5)
C(58)-C(57)-H(57)	119,9
C(55)-C(57)-H(57)	119,8
C(57)-C(58)-C(52)	120,3(4)
C(57)-C(58)-H(58)	119,9
C(52)-C(58)-H(58)	119,9
C(60)-O(13)-H(13)	111,2
O(13)-C(60)-C(59)	84,0(16)
O(13)-C(60)-H(60A)	114,8
C(59)-C(60)-H(60A)	115,0
O(13)-C(60)-H(60B)	114,1
C(59)-C(60)-H(60B)	114,6
H(60A)-C(60)-H(60B)	111,8
C(60)-C(59)-H(59A)	110,1
C(60)-C(59)-H(59B)	109,6
H(59A)-C(59)-H(59B)	109,1

C(60)-C(59)-H(59C)	110,1
H(59A)-C(59)-H(59C)	109,0
H(59B)-C(59)-H(59C)	109,0
C(62)-O(14)-H(14A)	119,8
O(14)-C(62)-C(61)	118,8(17)
O(14)-C(62)-H(62A)	108,6
C(61)-C(62)-H(62A)	107,9
O(14)-C(62)-H(62B)	106,7
C(61)-C(62)-H(62B)	107,3
H(62A)-C(62)-H(62B)	107,1
C(62)-C(61)-H(61A)	109,4
C(62)-C(61)-H(61B)	109,1
H(61A)-C(61)-H(61B)	109,5
C(62)-C(61)-H(61C)	109,9
H(61A)-C(61)-H(61C)	109,5
H(61B)-C(61)-H(61C)	109,5

Tabla D4. Parámetros de desplazamiento anisotrópico ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) para el **Ejemplo 4, sal de p-toluensulfonato**. El exponente del factor de desplazamiento anisotrópico adopta la forma de: $-2\pi^2 [h^2 a^{*2} U^{11} + \dots + 2 h k a^* b^* U^{12}]$.

	U11	U22	U33	U23	U13	U12
S(1)	59(1)	51(1)	57(1)	4(1)	-8(1)	-18(1)
S(2)	58(1)	51(1)	54(1)	3(1)	-9(1)	-16(1)
F(1)	84(2)	64(1)	85(2)	-24(1)	-16(1)	-24(1)
F(2)	74(2)	66(1)	82(2)	-25(1)	12(1)	-14(1)
N(1)	41(1)	57(2)	76(2)	-20(1)	-1(1)	-16(1)
N(2)	48(1)	44(1)	52(2)	-3(1)	-2(1)	-9(1)
N(3)	57(2)	42(1)	50(2)	-4(1)	-1(1)	-10(1)
N(4)	49(1)	43(1)	50(2)	-3(1)	-1(1)	-12(1)
N(5)	56(2)	42(1)	45(1)	-4(1)	-3(1)	-20(1)
N(6)	54(2)	41(1)	48(1)	-2(1)	-1(1)	-11(1)
N(7)	41(1)	51(2)	80(2)	-16(1)	-4(1)	-15(1)
N(8)	46(1)	42(1)	52(2)	0(1)	-3(1)	-8(1)

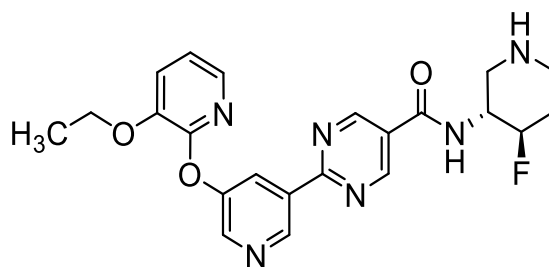
N(9)	59(2)	41(1)	50(2)	-2(1)	-7(1)	-12(1)
N(10)	54(2)	40(1)	52(2)	-4(1)	-7(1)	-12(1)
N(11)	45(1)	43(1)	47(1)	-4(1)	-4(1)	-6(1)
N(12)	62(2)	42(1)	48(1)	-1(1)	-10(1)	-16(1)
O(1)	37(1)	40(1)	78(2)	-12(1)	-7(1)	-8(1)
O(2)	34(1)	43(1)	70(2)	-19(1)	-7(1)	-6(1)
O(3)	83(2)	51(1)	56(1)	-6(1)	-2(1)	-35(1)
O(4)	40(1)	40(1)	77(2)	-14(1)	-8(1)	-7(1)
O(5)	37(1)	46(1)	67(2)	-19(1)	-8(1)	-8(1)
O(6)	58(1)	51(1)	56(1)	-7(1)	-6(1)	3(1)
O(7)	89(3)	118(3)	93(3)	28(2)	21(2)	-11(2)
O(8)	118(3)	52(1)	72(2)	4(1)	-43(2)	-32(2)
O(9)	86(2)	51(1)	88(2)	6(1)	-34(2)	-30(1)
O(10)	85(2)	57(2)	74(2)	9(1)	24(2)	3(1)
O(11)	151(4)	121(3)	91(3)	27(2)	-62(3)	-78(3)
O(12)	61(2)	48(1)	89(2)	8(1)	11(1)	-7(1)
C(1)	38(1)	41(1)	46(2)	-4(1)	-6(1)	-10(1)
C(2)	48(2)	38(2)	88(3)	-13(2)	-3(2)	-6(1)
C(3)	70(3)	53(2)	122(4)	-24(2)	-4(2)	-24(2)
C(4)	37(2)	51(2)	68(2)	-12(2)	-4(1)	-5(1)
C(5)	31(2)	70(2)	94(3)	-20(2)	-5(2)	-10(2)
C(6)	38(2)	67(2)	100(3)	-24(2)	-4(2)	-21(2)
C(7)	32(1)	45(1)	45(2)	-7(1)	-3(1)	-10(1)
C(8)	31(1)	41(1)	59(2)	-12(1)	-4(1)	-10(1)
C(9)	41(2)	47(2)	49(2)	-8(1)	-2(1)	-12(1)
C(10)	40(2)	38(1)	57(2)	-5(1)	-2(1)	-7(1)
C(11)	32(1)	42(1)	52(2)	-5(1)	-1(1)	-12(1)
C(12)	40(1)	38(1)	55(2)	-2(1)	-9(1)	-11(1)
C(13)	37(1)	42(1)	51(2)	-2(1)	-2(1)	-13(1)
C(14)	58(2)	41(2)	55(2)	-9(1)	1(2)	-13(1)
C(15)	42(2)	45(2)	51(2)	-3(1)	-1(1)	-17(1)
C(16)	52(2)	44(2)	51(2)	0(1)	-2(1)	-16(1)
C(17)	45(2)	45(2)	50(2)	-4(1)	-2(1)	-15(1)
C(18)	46(2)	37(1)	48(2)	-5(1)	-4(1)	-12(1)
C(19)	54(2)	47(2)	48(2)	-5(1)	-2(1)	-19(1)

C(20)	64(2)	57(2)	57(2)	3(2)	-15(2)	-9(2)
C(21)	56(2)	62(2)	64(2)	-6(2)	-16(2)	-14(2)
C(22)	45(2)	52(2)	64(2)	-5(1)	-4(1)	-14(1)
C(23)	37(1)	43(2)	44(2)	-5(1)	-4(1)	-9(1)
C(24)	52(2)	39(2)	80(3)	-10(2)	0(2)	-9(1)
C(25)	65(2)	53(2)	133(4)	-22(2)	-9(3)	-20(2)
C(26)	41(2)	52(2)	61(2)	-9(1)	-4(1)	-6(1)
C(27)	33(2)	71(2)	92(3)	-20(2)	-5(2)	-11(2)
C(28)	42(2)	73(2)	106(3)	-31(2)	0(2)	-23(2)
C(29)	35(1)	44(1)	44(2)	-7(1)	-4(1)	-8(1)
C(30)	30(1)	41(1)	58(2)	-13(1)	-4(1)	-9(1)
C(31)	40(2)	50(2)	49(2)	-7(1)	-2(1)	-12(1)
C(32)	41(2)	39(1)	52(2)	-7(1)	-4(1)	-7(1)
C(33)	34(1)	43(1)	50(2)	-5(1)	-6(1)	-12(1)
C(34)	39(2)	38(1)	55(2)	-2(1)	-10(1)	-9(1)
C(35)	37(1)	40(1)	50(2)	-5(1)	-7(1)	-9(1)
C(36)	56(2)	40(2)	54(2)	-6(1)	-6(2)	-9(1)
C(37)	41(2)	45(2)	47(2)	-1(1)	-9(1)	-11(1)
C(38)	55(2)	39(2)	52(2)	0(1)	-10(1)	-11(1)
C(39)	42(2)	41(1)	53(2)	-5(1)	-5(1)	-10(1)
C(40)	43(2)	37(1)	46(2)	-5(1)	-4(1)	-9(1)
C(41)	50(2)	42(1)	47(2)	-5(1)	-4(1)	-9(1)
C(42)	83(3)	56(2)	53(2)	4(2)	1(2)	-30(2)
C(43)	60(2)	64(2)	67(2)	-8(2)	9(2)	-30(2)
C(44)	51(2)	60(2)	61(2)	-8(2)	-3(2)	-24(2)
C(45)	45(2)	49(2)	54(2)	2(1)	-11(1)	-15(1)
C(46)	80(3)	68(2)	65(3)	-11(2)	-11(2)	-22(2)
C(47)	85(3)	94(3)	53(2)	3(2)	-12(2)	-35(3)
C(48)	57(2)	100(3)	77(3)	31(2)	-27(2)	-44(2)
C(49)	85(3)	151(6)	109(4)	68(4)	-42(3)	-69(4)
C(50)	61(2)	59(2)	106(4)	15(2)	-25(2)	-25(2)
C(51)	55(2)	46(2)	74(3)	-1(2)	-11(2)	-15(1)
C(52)	44(2)	53(2)	55(2)	4(1)	-7(1)	-19(1)
C(53)	53(2)	53(2)	73(3)	-1(2)	-6(2)	-17(2)
C(54)	57(2)	55(2)	95(4)	15(2)	-14(2)	-20(2)

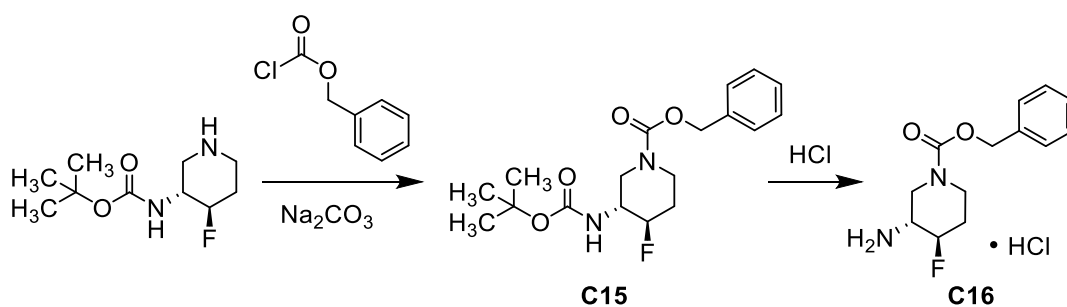
C(55)	50(2)	98(3)	84(3)	37(3)	-22(2)	-39(2)
C(56)	82(3)	154(6)	110(4)	76(4)	-42(3)	-69(4)
C(57)	81(3)	110(4)	60(3)	5(2)	-6(2)	-46(3)
C(58)	68(2)	65(2)	64(3)	-1(2)	-6(2)	-19(2)
O(13)	350(30)	59(6)	91(8)	3(5)	-14(12)	-21(11)
C(60)	590(80)	62(10)	75(13)	32(9)	-40(20)	-120(20)
C(59)	72(10)	101(12)	200(20)	78(13)	-16(12)	-9(9)
O(14)	350(40)	87(10)	139(15)	51(9)	-76(19)	-60(16)
C(62)	121(17)	83(12)	160(20)	38(12)	-63(16)	-15(11)
C(61)	114(12)	76(9)	133(14)	39(9)	-40(11)	-55(9)

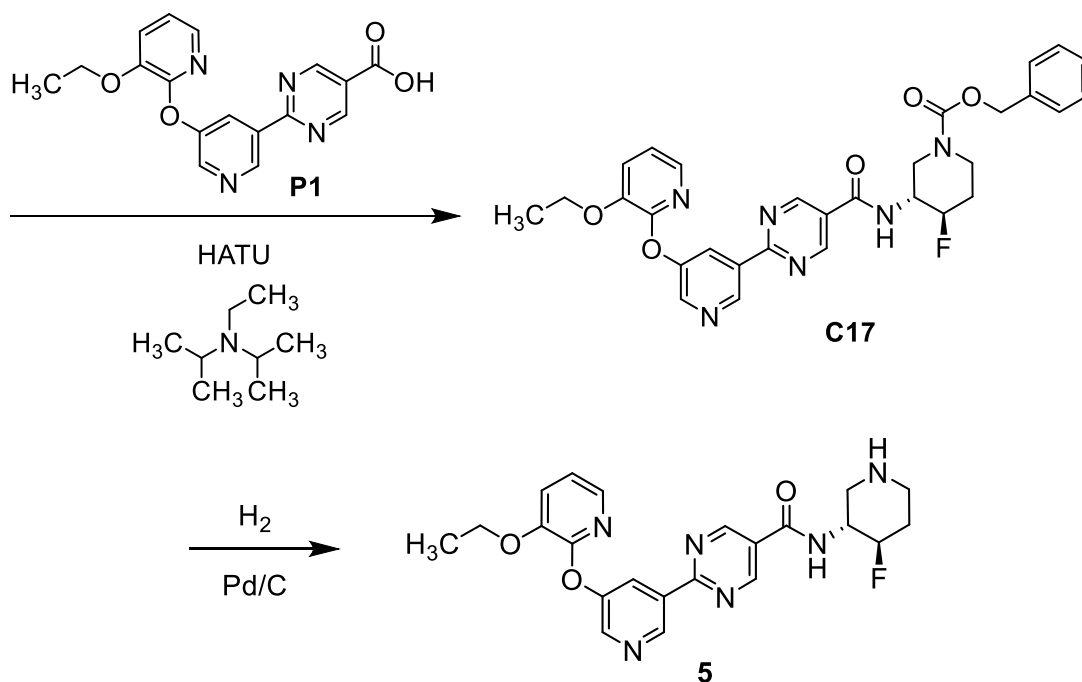
Ejemplo 5

2-{5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}-N-[(3R,4R)-4-fluoropiperidin-3-il]pirimidin-5-carboxamida (**5**)



5





Etapa 1. Síntesis de bencil (3R,4R)-3-[(ter-butoxycarbonil)amino]-4-fluoropiperidin-1-carboxilato (C15**).**

Se agregó cloroforniato de bencilo (258 mg, 1,51 mmol) a una mezcla a 0 °C de *ter*-butil [(3R,4R)-4-fluoropiperidin-3-il]carbamato (300 mg, 1,37 mmol) en tetrahidrofurano (15 ml) y solución acuosa de carbonato de sodio (1 M; 2,75 ml, 2,75 mmol). Después de que la mezcla de reacción se agitara a 15 °C durante 16 horas, se agregó agua (20 ml), y la mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (2 x 30 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con solución acuosa saturada de cloruro de sodio (50 ml), se secaron en sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron al vacío para obtener **C15** como un sólido blanco. Rendimiento: 485 mg, 1,38 mmol, cuantitativo. ¹H RMN (400 MHz, cloroformo-*d*) δ 7,43 – 7,28 (m, 5H), 5,14 (cuarteto AB, *J*_{AB} = 12,3 Hz, Δ*v*_{AB} = 14,2 Hz, 2H; doblete campo abajo ampliado), 4,83 – 4,53 (m, 2H), 3,87 – 3,33 (m, 4H), 2,06 – 1,75 (m, 2H), 1,44 (s, 9H).

Etapa 2. Síntesis de bencil (3R,4R)-3-amino-4-fluoropiperidin-1-carboxilato, sal de clorhidrato (C16**).**

Una solución de **C15** (485 mg, 1,38 mmol) en metanol (6 ml) se trató con cloruro de hidrógeno (solución en acetato de etilo; 12 ml). Después de que la mezcla de reacción se agitara a 20 °C durante 1 hora, esta se concentró al vacío para obtener **C16** como un sólido blanco. Rendimiento: 370 mg, 1,28 mmol, 93 %. ¹H RMN (400 MHz, óxido de deuterio) δ 7,50 – 7,39 (m, 5H), 5,17 (s, 2H), 4,93 – 4,71 (m, 1H, asumido; parcialmente

oculto por el pico de solvente), 4,42 – 4,27 (m, 1H), 4,24 – 3,98 (m, 1H), 3,51 – 3,39 (m, 1H), 3,21 – 2,99 (m, 2H), 2,29 – 2,16 (m, 1H), 1,86 – 1,71 (m, 1H).

Etapa 3. Síntesis de bencil (3R,4R)-3-[[2-5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-il]pirimidin-5-il]carbonil]amino}-4-fluoropiperidin-1-carboxilato (C17).

A una mezcla de **P1** (170 mg, 0,502 mmol), **C16** (145 mg, 0,502 mmol) y *N,N*-diisopropiletilamina (0,263 ml, 1,51 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (8 ml) se agregó *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio hexafluorofosfato (HATU; 287 mg, 0,755 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 18 °C durante 2 horas, después de lo cual se combinó con dos reacciones similares llevadas a cabo usando **C16** (42,7 mg, 0,148 mmol y 171 mg, 0,592 mmol), se diluyó con agua (50 ml) y se extrajo con acetato de etilo (30 ml). La capa orgánica se lavó con una solución acuosa saturada de cloruro de sodio (50 ml), se secó en sulfato de sodio, se filtró y se concentró a presión reducida. Tras la cromatografía de gel de sílice (gradiente: 0 % a 100 % de acetato de etilo en éter de petróleo) se obtuvo **C17** como un sólido amarillo. Rendimiento combinado: 540 mg, 0,943 mmol, 76 %. LCMS *m/z* 573,1 [M+H]⁺.

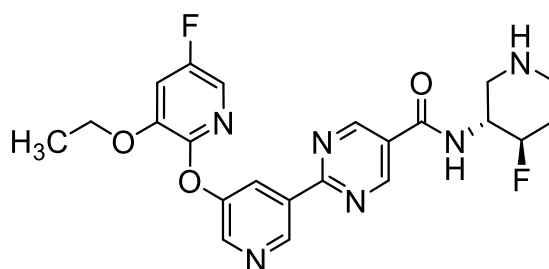
Etapa 4. Síntesis de 2-5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}-N-[(3R,4R)-4-fluoropiperidin-3-il]pirimidin-5-carboxamida (5).

Una mezcla de **C17** (300 mg, 0,524 mmol) y 10 % de paladio sobre carbón (300 mg) en etanol (20 ml) se agitó en un globo de hidrógeno durante 2 horas a 15 °C. Después de que la mezcla de reacción se haya combinado con dos reacciones similares llevadas a cabo usando **C17** (200 mg, 0,349 mmol y 40 mg, 70 µmol), esta se filtró a través de una almohadilla de tierra diatomácea. El filtrado se concentró, y el residuo se purificó mediante HPLC de fase inversa (columna: Agela Durashell C18, 5 µm; fase móvil A: 0,05 % de hidróxido de amonio en agua; fase móvil B: acetonitrilo; gradiente: 30 % a 50 % de B), para producir 2-5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}-*N*-[(3R,4R)-4-fluoropiperidin-3-il]pirimidin-5-carboxamida como un sólido blanco. Rendimiento combinado: 174 mg, 0,397 mmol, 42 %. LCMS *m/z* 439,2 [M+H]⁺. ¹H RMN (400 MHz, cloroformo-*d*) δ 9,52 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H), 9,20 (s, 2H), 8,65 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H), 8,56 (dd, *J* = 2,7, 1,8 Hz, 1H), 7,71 (dd, *J* = 4,9, 1,5 Hz, 1H), 7,28 – 7,23 (m, 1H, asumido; parcialmente oculto por el pico de solvente), 7,17 (br d, *J* = 8 Hz, 1H), 7,02 (dd, *J* = 7,9, 4,9 Hz, 1H), 4,86 – 4,66 (m, 1H), 4,37 – 4,26 (m, 1H), 4,18 (q, *J* = 7,0 Hz, 2H), 3,36 (ddd, *J* = 12,3, 3,4, 3,4 Hz, 1H), 3,09 – 2,99 (m, 1H), 2,86 – 2,75 (m, 2H), 2,11 – 1,81 (m, 2H), 1,50 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H).

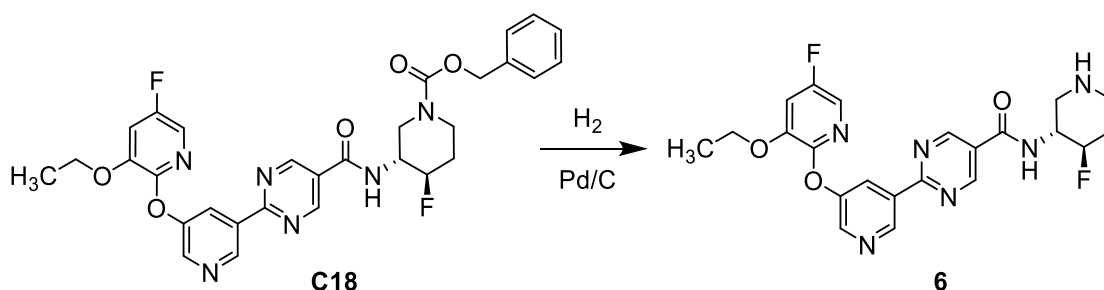
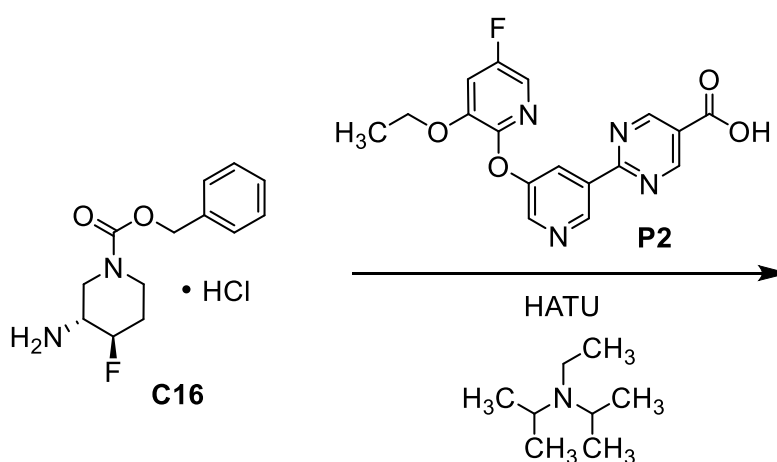
Ejemplo 6

2-5-[(3-etoxi-5-fluoropiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}-N-[(3R,4R)-4-fluoropiperidin-3-

il]pirimidin-5-carboxamida (**6**)



6



Etapas 1. Síntesis de bencil (3R,4R)-3-[[[(2-{5-[(3-ethoxy-5-fluoropiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}pirimidin-5-il)carbonil]amino}-4-fluoropiperidin-1-carboxilato (C18**).**

A una mezcla de **P2** (50 mg, 0,14 mmol), **C16** (40,5 mg, 0,140 mmol) y *N,N*-diisopropiletilamina (73,3 μ l, 0,421 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (2 ml) se agregó *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio hexafluorofosfato (HATU; 80 mg, 0,21 mmol). Después de que la mezcla de reacción se agitara a 18 °C durante 2 horas, esta se combinó con una reacción similar llevada a cabo usando **C16** (24,3 mg, 84,2 μ mol), luego se inactivó con agua (20 ml) y se extrajo con acetato de etilo (20 ml). La capa orgánica se lavó con una solución acuosa saturada de cloruro de sodio (50 ml), se secó en sulfato de sodio, se filtró y se concentró al vacío. La purificación del residuo mediante cromatografía preparativa de capa delgada (eluyente: acetato de etilo) produjo

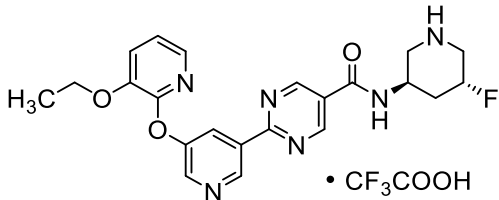
C18 como un sólido amarillo. Rendimiento combinado: 90 mg, 0,152 mmol, 68 %. LCMS m/z 591,1 $[M+H]^+$.

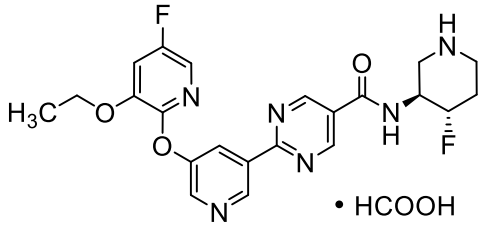
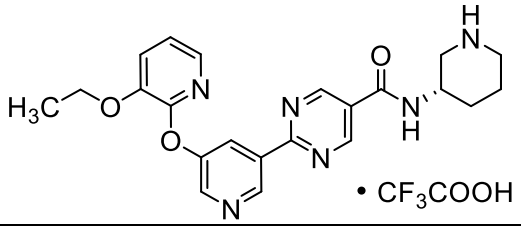
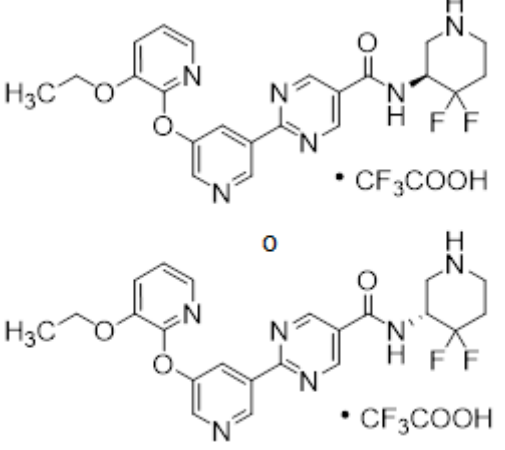
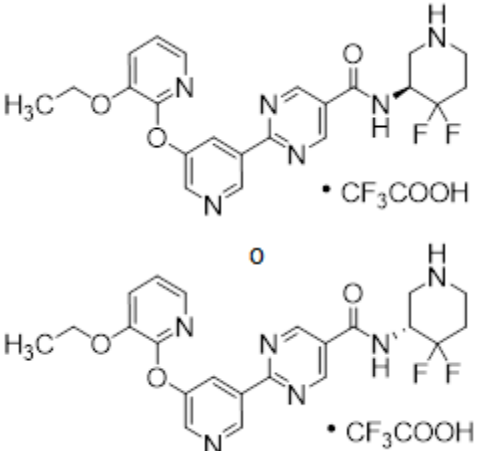
Etapas 2. Síntesis de 2-{5-[(3-etoxi-5-fluoropiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}-N-[(3R,4R)-4-fluoropiperidin-3-il]pirimidin-5-carboxamida (6).

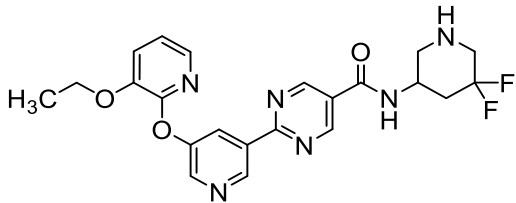
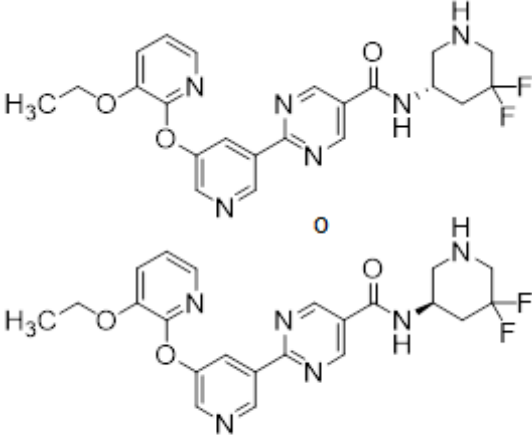
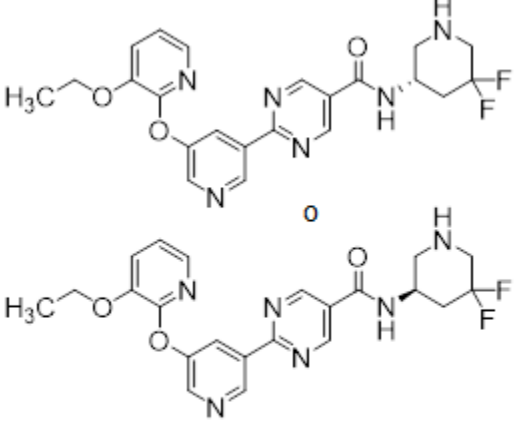
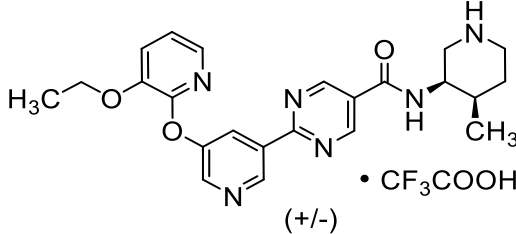
Una mezcla de **C18** (70 mg, 0,12 mmol) y 10 % de paladio sobre carbón (100 mg) en etanol (20 ml) se agitó en un globo de hidrógeno durante 2 horas a 15 °C, después de lo cual se combinó con una reacción similar llevada a cabo usando **C18** (20 mg, 34 μ mol) y se filtró a través de una almohadilla de tierra diatomácea. Después de que el filtrado se haya concentrado al vacío, el residuo se purificó mediante HPLC de fase inversa (Columna: Agela Durashell C18, 5 μ m; fase móvil A: 0,05 % de hidróxido de amonio en agua; fase móvil B: acetonitrilo; gradiente: 30 % a 50 % de B); esto produjo 2-{5-[(3-etoxi-5-fluoropiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}-N-[(3R,4R)-4-fluoropiperidin-3-il]pirimidin-5-carboxamida como un sólido blanco. Rendimiento: 14,2 mg, 31,1 μ mol, 20 %. LCMS m/z 457,1 $[M+H]^+$. 1H RMN (400 MHz, cloroformo- d) δ 9,52 (d, J = 1,8 Hz, 1H), 9,20 (s, 2H), 8,63 (d, J = 2,7 Hz, 1H), 8,53 (dd, J = 2,7, 1,8 Hz, 1H), 7,58 (d, J = 2,6 Hz, 1H), 7,16 – 7,09 (br m, 1H), 7,06 (dd, J = 9,2, 2,6 Hz, 1H), 4,86 – 4,68 (m, J_{HF} = 47,2 Hz, 1H), 4,37 – 4,27 (m, 1H), 4,16 (q, J = 7,0 Hz, 2H), 3,36 (ddd, J = 12,2, 3,5, 3,4 Hz, 1H), 3,09 – 2,99 (m, 1H), 2,87 – 2,76 (m, 2H), 2,11 – 1,82 (m, 2H), 1,51 (t, J = 7,0 Hz, 3H).

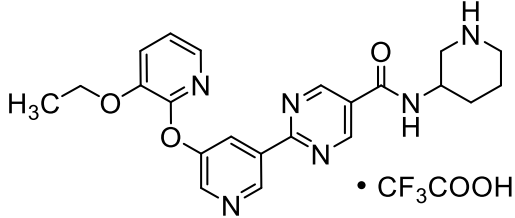
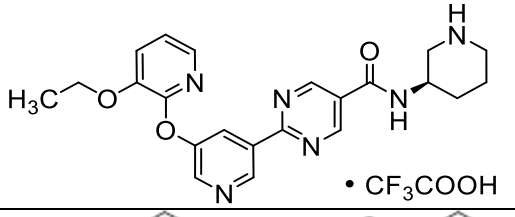
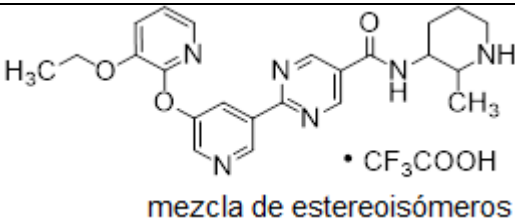
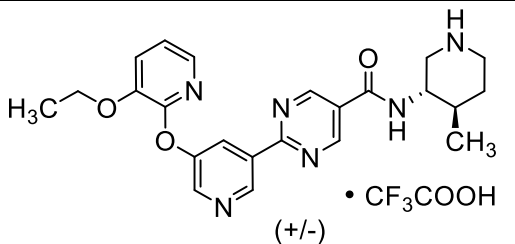
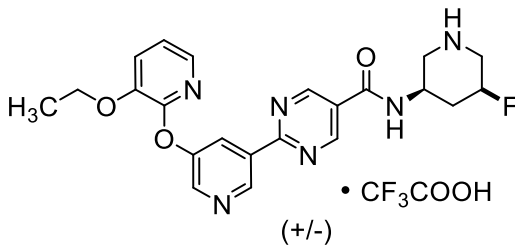
Ejemplos 7 – 25

Tabla 1. Método de síntesis y estructura para los Ejemplos 7 – 25. Los siguientes ejemplos se llevaron a cabo a partir de procesos análogos a los Ejemplos identificados y a partir de materiales de inicio análogos adecuados.

Número de ejemplo	Método de síntesis; materiales de inicio no comerciales	Estructura
7	Ejemplo 5 ¹ ; P1	

Número de ejemplo	Método de síntesis; materiales de inicio no comerciales	Estructura
13	Ejemplo 5 ⁶ ; P2	 • HCOOH
14	Ejemplo 5 ¹ ; P1	 • CF₃COOH
15	Ejemplo 14 ⁷ ; P1	 • CF₃COOH Del enantiómero que se eluyó en primer lugar del intermediario (ver nota al pie 7)
16	Ejemplo 14 ⁷ ; P1	 • CF₃COOH Del enantiómero que se eluyó en segundo lugar del intermediario (ver nota al pie 9)

Número de ejemplo	Método de síntesis; materiales de inicio no comerciales	Estructura
17	Ejemplo 11, ³ ; P1	
18	Ejemplo 17 ⁸	 ENT-1
19	Ejemplo 17 ⁸	 ENT-2
20	Ejemplo 14; P1	 • CF₃COOH (+/-)

Número de ejemplo	Método de síntesis; materiales de inicio no comerciales	Estructura
21	Ejemplo 14; P1	 • CF ₃ COOH
22	Ejemplo 14; P1	 • CF ₃ COOH
23	Ejemplo 14; P1	 • CF ₃ COOH mezcla de estereoisómeros
24	Ejemplo 14; P1	 • CF ₃ COOH (+/-)
25	Ejemplo 5º; P1	 • CF ₃ COOH (+/-)

1. En este caso, el nitrógeno del reactivo de la cadena lateral de piperidina se protegió con un grupo *ter*-butoxicarbonilo. Después de la reacción de acoplamiento de amida, el producto se desprotegió usando ácido trifluoroacético.
2. La reacción de cloroformiato de bencilo con *ter*-butil [6-(trifluorometil)piperidin-3-il]carbamato en presencia de *N,N*-diisopropiletilamina produjo bencil 5-[(*ter*-butoxicarbonil)amino]-2-(trifluorometil)piperidin-1-carboxilato, que se desprotegió con ácido trifluoroacético para obtener el bencil 5-amino-2-(trifluorometil)piperidin-1-carboxilato requerido como una mezcla de estereoisómeros.
3. En este caso, el acoplamiento de amida fue mediado por yoduro de 2-cloro-1-

metilpiridinio (reactivo de Mukaiyama) y trietilamina.

4. Los productos *cis* y *trans* racémicos se separaron usando HPLC de fase inversa (Columna: Waters XBridge C18 OBD, 5 µm; fase móvil A: agua que contenía 0,04 % de hidróxido de amonio y 10 mM de bicarbonato de amonio; fase móvil B: acetonitrilo; gradiente: 23 % a 53 % de B). El isómero que se eluyó en primer lugar se denominó Ejemplo 8, y el isómero que se eluyó en segundo lugar, Ejemplo 9.

5. El Ejemplo 9 se separó en sus enantiómeros componentes usando cromatografía de fluido supercrítico {columna: Phenomenex Lux Amylose-1, 5 µm; fase móvil: 7:3 dióxido de carbono / [etanol que contiene 0,2 % (amoníaco 7 M en metanol)]}. El enantiómero que se eluyó en primer lugar se denominó Ejemplo 10, y el enantiómero que se eluyó en segundo lugar, Ejemplo 11. Tiempo de retención para el Ejemplo 10: 6,48 minutos [columna: Phenomenex Lux Amilose-1, 4,6 x 250 mm, 5 µm; fase móvil A: dióxido de carbono; fase móvil B: etanol que contenía 0,2 % (amoníaco 7 M en metanol); gradiente: 5 % de B durante 1,0 minutos, luego 5 % a 60 % de B durante 8,0 minutos; velocidad de flujo: 3,0 ml/minuto; contrapresión: 120 bar]. Tiempo de retención para el Ejemplo 11: 6,68 minutos (condiciones analíticas idénticas a las usadas para el Ejemplo 10). Estos dos compuestos eran enantiómeros entre sí, pero de estereoquímicas relativa y absoluta no determinadas.

6. La cadena lateral de piperidina usada para el Ejemplo 13 fue *ter*-butil (3*S*,4*S*)-3-amino-4-fluoropiperidin-1-carboxilato; después del acoplamiento de amida, la desprotección se llevó a cabo usando ácido trifluoroacético.

7. La reacción de *ter*-butil *rac*-(3*R*,4*R*)-3-amino-4-hidroxipiperidin-1-carboxilato con cloroformiato de bencilo y carbonato de sodio, seguida por la oxidación del producto con 1,1,1-tris(acetiloxi)-1,1-dihidro-1,2-benciodoxol-3-(1*H*)-ona (periodinano de Dess-Martin), produjo *ter*-butil 3-[[(benciloxi)carbonil]amino]-4-oxopiperidin-1-carboxilato. La desfluorinación de este material usando trifluoruro de (dietilamino)azufre produjo *ter*-butil 3-[[(benciloxi)carbonil]amino]-4,4-difluoropiperidin-1-carboxilato, que se separó en sus enantiómeros componentes mediante cromatografía de fluido supercrítico [Columna: Chiral Technologies Chiralpak AD, 10 µm; fase móvil: 85:15 dióxido de carbono / (etanol que contenía 0,15 % de hidróxido de amonio)]. El enantiómero que se eluyó en primer lugar tenía un tiempo de retención de 2,73 minutos (Columna: Chiral Technologies Chiralcel OJ-H, 4.6 x 250 mm, 5 µm; fase móvil A: dióxido de carbono; fase móvil B: etanol que contenía 0,05 % de dietilamina; gradiente: 5 % a 40 % de B durante 5 minutos; velocidad de flujo: 2,5 ml/minuto). El enantiómero que se eluyó en segundo lugar exhibió un tiempo de retención de 3,08 minutos en las mismas

condiciones. El enantiómero que se eluyó en primer lugar se desprotegió a través de hidrogenación en hidróxido de paladio, para obtener un enantiómero de *ter*-butil 3-amino-4,4-difluoropiperidin-1-carboxilato; este material exhibió una rotación negativa (-) y se usó en la síntesis del Ejemplo 15. El enantiómero que se eluyó en segundo lugar se desprotegió de la misma manera para proporcionar el otro enantiómero de *ter*-butil 3-amino-4,4-difluoropiperidin-1-carboxilato, que exhibió una rotación positiva (+) y se usó en la síntesis del Ejemplo 16.

8. El Ejemplo 17 se separó en sus enantiómeros componentes usando cromatografía de fluido supercrítico [columna: Chiral Technologies Chiralpak IC, 5 µm; fase móvil: 3:2 dióxido de carbono / (etanol que contenía 0,1 % de hidróxido de amonio)]. El enantiómero que se eluyó en primer lugar se denominó Ejemplo 18, y tenía un tiempo de retención de 3,42 minutos ([columna: Chiral Technologies Chiralpak IC, 3 µm; fase móvil: 3:2 dióxido de carbono / (etanol que contenía 0,05 % de dietilamina); velocidad de flujo 2,5 ml/minuto]. El enantiómero que se eluyó en segundo lugar se denominó Ejemplo 19, y tenía un tiempo de retención de 4,42 minutos (condiciones analíticas idénticas a las usadas para el Ejemplo @521).

9. La cadena lateral de piperidina usada para el Ejemplo 25 fue *ter*-butil *rac*-(3*R*,5*S*)-3-amino-5-fluoropiperidin-1-carboxilato; después del acoplamiento de amida, la desprotección se llevó a cabo usando ácido trifluoroacético.

Tabla 2. Nombre de compuestos y datos fisicoquímicos para los Ejemplos 7 – 25.

Número de ejemplo	Nombre del compuesto	¹ H RMN (400 MHz, CDCl ₃); espectro de masa, ion observado <i>m/z</i> [M+H] ⁺ o tiempo de retención de HPLC; espectro de masa <i>m/z</i> [M+H] ⁺ (a menos que se indique lo contrario)
7	2-{5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}- <i>N</i> -[(3 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)-5-fluoropiperidin-3-il]pirimidin-5-carboxamida, sal de trifluoroacetato	1,82 minutos ¹ ; 439,1
8	Isómero que se eluyó en primer lugar (ver nota al pie 4 en Tabla 1); <i>rac</i> -2-{5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}- <i>N</i> -[(3 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-6-(trifluorometil)piperidin-3-il]pirimidin-5-carboxamida o <i>rac</i> -2-{5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}- <i>N</i> -[(3 <i>R</i> ,6 <i>R</i>)-6-(trifluorometil)piperidin-3-il]pirimidin-5-carboxamida	Isómero que se eluyó en primer lugar; picos característicos: 9,62 – 9,42 (m, 1H), 9,13 (s, 2H), 8,73 – 8,59 (m, 1H), 8,56 (s, 1H), 7,70 (dd, <i>J</i> = 5,0, 1,5 Hz, 1H), 7,29 – 7,22 (m, 1H, asumido; parcialmente oculto por el pico de solvente), 7,03 (dd, <i>J</i> = 7,9, 4,9 Hz, 1H), 6,26 (br d, <i>J</i> = 7,7 Hz, 1H), 4,23 – 4,09 (m, 1H), 4,18 (q, <i>J</i> = 7,0 Hz, 2H), 3,51 (br d, <i>J</i> = 12 Hz, 1H), 3,24 – 3,12 (m, 1H), 2,63 – 2,54 (m, 1H), 2,29 – 2,18 (m, 1H), 2,08 – 1,96 (m, 1H), 1,78 – 1,66 (m, 1H), 1,50 (t, <i>J</i> = 7,0 Hz, 3H); 489,3

Número de ejemplo	Nombre del compuesto	¹ H RMN (400 MHz, CDCl ₃); espectro de masa, ion observado <i>m/z</i> [M+H] ⁺ o tiempo de retención de HPLC; espectro de masa <i>m/z</i> [M+H] ⁺ (a menos que se indique lo contrario)
9	Isómero que se eluyó en segundo lugar (ver nota al pie 4 en Tabla 1); <i>rac</i> -2-{5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}- <i>N</i> -[(3 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-6-(trifluorometil)piperidin-3-il]pirimidin-5-carboxamida o <i>rac</i> -2-{5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}- <i>N</i> -[(3 <i>R</i> ,6 <i>R</i>)-6-(trifluorometil)piperidin-3-il]pirimidin-5-carboxamida	Isómero que se eluyó en segundo lugar; 9,60 – 9,48 (m, 1H), 9,19 (s, 2H), 8,71 – 8,61 (m, 1H), 8,57 (br s, 1H), 7,71 (dd, <i>J</i> = 4,8, 1,5 Hz, 1H), 7,3 – 7,23 (m, 1H, asumido; parcialmente oculto por el pico de solvente), 7,20 (br d, <i>J</i> = 7,8 Hz, 1H), 7,02 (dd, <i>J</i> = 7,9, 4,9 Hz, 1H), 4,40 – 4,32 (m, 1H), 4,18 (q, <i>J</i> = 7,0 Hz, 2H), 3,28 – 3,19 (m, 1H), 3,16 (br d, <i>J</i> = 12 Hz, 1H), 3,01 (br d, <i>J</i> = 12 Hz, 1H), 2,24 – 2,13 (m, 1H), 1,86 – 1,65 (m, 3H, asumido; parcialmente oculto por el pico de agua), 1,50 (t, <i>J</i> = 7,0 Hz, 3H); 489,3
10	Enantiómero que se eluyó en primer lugar de la separación del Ejemplo 9 (ver nota al pie 5 en Tabla 1); 2-{5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}- <i>N</i> -[6-(trifluorometil)piperidin-3-il]pirimidin-5-carboxamida, sal de trifluoroacetato, ENT-1	1,91 minutos ¹ ; 489,4
11	Enantiómero que se eluyó en segundo lugar de la separación del Ejemplo 9 (ver nota al pie 5 en Tabla 1); 2-{5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}- <i>N</i> -[6-(trifluorometil)piperidin-3-il]pirimidin-5-carboxamida, sal de trifluoroacetato, ENT-2	1,91 minutos ¹ ; 489,4
12	2-{5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}- <i>N</i> -[(3 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)-4-fluoropiperidin-3-il]pirimidin-5-carboxamida, sal de trifluoroacetato	9,83 (br s, 2H), 9,63 (s, 1H), 9,35 (s, 2H), 9,12 (br d, <i>J</i> = 7,9 Hz, 1H), 9,05 (dd, <i>J</i> = 2,5, 1,5 Hz, 1H), 8,77 (d, <i>J</i> = 2,5 Hz, 1H), 7,70 (dd, <i>J</i> = 4,8, 1,5 Hz, 1H), 7,31 (dd, <i>J</i> = 8,0, 1,5 Hz, 1H), 7,12 (dd, <i>J</i> = 8,0, 4,8 Hz, 1H), 4,92 (br d, <i>J</i> _{HF} = 46,1 Hz, 1H), 4,82 – 4,72 (m, 1H), 4,17 (q, <i>J</i> = 7,0 Hz, 2H), 3,58 (br cuarteto AB, <i>J</i> _{AB} = 13 Hz, Δ _{VAB} = 55 Hz, 2H), 3,44 – 3,29 (m, 2H), 2,52 – 2,31 (m, 1H), 2,26 – 2,11 (m, 1H), 1,49 (t, <i>J</i> = 7,0 Hz, 3H); 439,4
13	2-{5-[(3-etoxi-5-fluoropiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}- <i>N</i> -[(3 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)-4-fluoropiperidin-3-il]pirimidin-5-carboxamida, sal de formiato	Picos característicos: 9,48 (d, <i>J</i> = 1,7 Hz, 1H), 8,89 (s, 2H), 8,62 (d, <i>J</i> = 2,7 Hz, 1H), 8,52 (dd, <i>J</i> = 2,7, 1,7 Hz, 1H), 7,56 (d, <i>J</i> = 2,5 Hz, 1H), 7,05 (dd, <i>J</i> = 9,1, 2,5 Hz, 1H), 4,77 – 4,44 (m, 1H), 4,38 – 4,21 (m, 1H), 4,15 (q, <i>J</i> = 7,0 Hz, 2H), 3,44 – 3,34 (m, 1H), 2,30 – 2,12 (m, 1H), 1,95 – 1,71 (m, 1H), 1,50 (t, <i>J</i> = 7,0 Hz, 3H); 457,1
14	2-{5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}- <i>N</i> -[(3 <i>S</i>)-piperidin-3-il]pirimidin-5-carboxamida, sal de trifluoroacetato	2,29 minutos ² ; 421

Número de ejemplo	Nombre del compuesto	¹ H RMN (400 MHz, CDCl ₃); espectro de masa, ion observado <i>m/z</i> [M+H] ⁺ o tiempo de retención de HPLC; espectro de masa <i>m/z</i> [M+H] ⁺ (a menos que se indique lo contrario)
15	Del enantiómero que se eluyó en primer lugar del intermediario (ver nota al pie 7, Tabla 1); <i>N</i> -[(3 <i>S</i>)-4,4-difluoropiperidin-3-il]-2-{5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}pirimidin-5-carboxamida, sal de trifluoroacetato o <i>N</i> -[(3 <i>R</i>)-4,4-difluoropiperidin-3-il]-2-{5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}pirimidin-5-carboxamida, sal de trifluoroacetato	2,50 minutos ² ; 457
16	Del enantiómero que se eluyó en segundo lugar del intermediario (ver nota al pie 7, Tabla 1); <i>N</i> -[(3 <i>S</i>)-4,4-difluoropiperidin-3-il]-2-{5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}pirimidin-5-carboxamida, sal de trifluoroacetato o <i>N</i> -[(3 <i>R</i>)-4,4-difluoropiperidin-3-il]-2-{5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}pirimidin-5-carboxamida, sal de trifluoroacetato	2,48 minutos ² ; 457
17	<i>N</i> -(5,5-difluoropiperidin-3-il)-2-{5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}pirimidin-5-carboxamida	9,51 (d, <i>J</i> = 1,8 Hz, 1H), 9,16 (s, 2H), 8,65 (d, <i>J</i> = 2,8 Hz, 1H), 8,58 – 8,54 (m, 1H), 7,71 (br d, <i>J</i> = 4,8 Hz, 1H), 7,3 – 7,23 (m, 1H, asumido; parcialmente oculto por el pico de solvente), 7,02 (dd, <i>J</i> = 7,9, 4,8 Hz, 1H), 6,96 (br d, <i>J</i> = 8,5 Hz, 1H), 4,58 – 4,48 (m, 1H), 4,18 (q, <i>J</i> = 7,0 Hz, 2H), 3,28 – 3,16 (m, 1H), 3,07 – 2,89 (m, 3H), 2,39 – 2,12 (m, 2H), 1,50 (t, <i>J</i> = 7,0 Hz, 3H); 457,4
18	Enantiómero que se eluyó en primer lugar (ver nota al pie 8 en Tabla 1); <i>N</i> -[(3 <i>S</i>)-5,5-difluoropiperidin-3-il]-2-{5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}pirimidin-5-carboxamida o <i>N</i> -[(3 <i>R</i>)-5,5-difluoropiperidin-3-il]-2-{5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}pirimidin-5-carboxamida	9,55 – 9,49 (m, 1H), 9,16 (s, 2H), 8,68 – 8,62 (m, 1H), 8,56 (br s, 1H), 7,71 (br d, <i>J</i> = 5,0 Hz, 1H), 7,3 – 7,23 (m, 1H, asumido; parcialmente oculto por el pico de solvente), 7,02 (dd, <i>J</i> = 7,9, 4,9 Hz, 1H), 6,95 (br d, <i>J</i> = 8 Hz, 1H), 4,58 – 4,49 (m, 1H), 4,18 (q, <i>J</i> = 7,0 Hz, 2H), 3,28 – 3,17 (m, 1H), 3,08 – 2,89 (m, 3H), 2,39 – 2,11 (m, 2H), 1,50 (t, <i>J</i> = 7,0 Hz, 3H); 457,4

Número de ejemplo	Nombre del compuesto	¹ H RMN (400 MHz, CDCl ₃); espectro de masa, ion observado <i>m/z</i> [M+H] ⁺ o tiempo de retención de HPLC; espectro de masa <i>m/z</i> [M+H] ⁺ (a menos que se indique lo contrario)
19	Enantiómero que se eluyó en segundo lugar (ver nota al pie 8 en Tabla 1); <i>N</i> -[(3 <i>S</i>)-5,5-difluoropiperidin-3-il]-2-{5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}pirimidin-5-carboxamida o <i>N</i> -[(3 <i>R</i>)-5,5-difluoropiperidin-3-il]-2-{5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}pirimidin-5-carboxamida	9,52 (d, <i>J</i> = 1,7 Hz, 1H), 9,16 (s, 2H), 8,65 (d, <i>J</i> = 2,7 Hz, 1H), 8,56 (dd, <i>J</i> = 2, 2 Hz, 1H), 7,73 – 7,69 (m, 1H), 7,3 – 7,23 (m, 1H, asumido; parcialmente oculto por el pico de solvente), 7,03 (dd, <i>J</i> = 7,9, 5,0 Hz, 1H), 6,92 (br d, <i>J</i> = 8 Hz, 1H), 4,57 – 4,49 (m, 1H), 4,18 (q, <i>J</i> = 7,0 Hz, 2H), 3,28 – 3,17 (m, 1H), 3,06 – 2,89 (m, 3H), 2,39 – 2,12 (m, 2H), 1,50 (t, <i>J</i> = 7,0 Hz, 3H); 457,4
20	<i>rac</i> -2-{5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}- <i>N</i> -[(3 <i>R</i> ,4 <i>R</i>)-4-metilpiperidin-3-il]pirimidin-5-carboxamida, sal de trifluoroacetato	2,38 minutos ² ; 435
21	2-{5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}- <i>N</i> -(piperidin-3-il)pirimidin-5-carboxamida, sal de trifluoroacetato	2,37 minutos ² ; 421
22	2-{5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}- <i>N</i> -(3 <i>R</i>)-piperidin-3-il]pirimidin-5-carboxamida, sal de trifluoroacetato	2,64 minutos ² ; 421
23	2-{5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}- <i>N</i> -(2-metilpiperidin-3-il)pirimidin-5-carboxamida, sal de trifluoroacetato, mezcla de estereoisómeros	2,39 minutos ² ; 435
24	<i>rac</i> -2-{5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}- <i>N</i> -[(3 <i>R</i> ,4 <i>S</i>)-4-metilpiperidin-3-il]pirimidin-5-carboxamida, sal de trifluoroacetato	2,42 minutos ² ; 435
25	<i>rac</i> -2-{5-[(3-etoxipiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}- <i>N</i> -[(3 <i>R</i> ,5 <i>S</i>)-5-fluoropiperidin-3-il]pirimidin-5-carboxamida, sal de trifluoroacetato	¹ H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 9,40 (d, <i>J</i> = 1,8 Hz, 1H), 9,27 (s, 2H), 9,15 – 8,93 (br s, 2H), 8,79 (br d, <i>J</i> = 6,9 Hz, 1H), 8,65 (d, <i>J</i> = 2,7 Hz, 1H), 8,38 (dd, <i>J</i> = 2,7, 1,8 Hz, 1H), 7,68 (dd, <i>J</i> = 4,9, 1,5 Hz, 1H), 7,58 (dd, <i>J</i> = 8,0, 1,5 Hz, 1H), 7,18 (dd, <i>J</i> = 8,0, 4,8 Hz, 1H), 5,01 (br d, <i>J</i> _{HF} = 45,8 Hz, 1H), 4,36 – 4,25 (m, 1H), 4,18 (q, <i>J</i> = 7,0 Hz, 2H), 3,57 – 3,45 (m, 1H), 3,39 (br d, <i>J</i> = 12,4 Hz, 1H), 3,31 – 3,19 (m, 1H), 3,06 (dd, <i>J</i> = 12,4, 8,1 Hz, 1H), 2,43 – 2,29 (m, 1H), 2,08 – 1,95 (m, 1H), 1,37 (t, <i>J</i> = 7,0 Hz, 3H); 439,2

1. Condiciones de HPLC analítica. Columna: Waters Atlantis dC18, 4,6 x 50 mm, 5 μm; fase móvil A: 0,05 % de ácido trifluoroacético en agua (v/v); fase móvil B: 0,05 % de

ácido trifluoroacético en acetonitrilo (v/v); gradiente: 5,0 % a 95 % de B, lineal durante 4,0 minutos; velocidad de flujo: 2 ml/minuto.

2. Condiciones de HPLC analítica. Columna: Waters XBridge C18, 2,1 x 50 mm, 5 µm; fase móvil A: 0,0375 % de ácido trifluoroacético en agua; fase móvil B: 0,01875 % de ácido trifluoroacético en acetonitrilo; gradiente: 1 % a 5 % de B durante 0,6 minutos; 5 % a 100 % de B durante 3,4 minutos; velocidad de flujo: 0,8 ml/minuto.

Ejemplos D1– D3

La Tabla 3 incluye tres ejemplos proféticos que incorporan un grupo etilo deuterado. La preparación de estos compuestos emplea variaciones de los métodos descritos anteriormente que usan las personas del oficio de nivel medio. El Ejemplo **D1** se puede preparar de los intermediarios **P3** y **P4**, de manera análoga a la descrita para el Ejemplo **4**. Los Ejemplos **D2** y **D3** se pueden preparar de una versión deuterada de **P2** a través de los métodos usados para los Ejemplos **2** y **1**, respectivamente.

Tabla 3. Nombre de compuestos y estructura para los Ejemplos **D1 – D3**

Número de ejemplo	Nombre del compuesto	Estructura
D1	2-{5-(((3-etoxi- <i>d</i> ₅)piridin-2-il)oxi]piridin-3-il}-N-[(3S,5S)-5-fluoropiperidin-3-il]pirimidin-5-carboxamida	
D2	2-{5-(((3-etoxi- <i>d</i> ₅)-5-fluoropiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}-N-[(3S,5S)-5-fluoropiperidin-3-il]pirimidin-5-carboxamida	
D3	2-{5-(((3-etoxi- <i>d</i> ₅)-5-fluoropiridin-2-il)oxi]piridin-3-il}-N-[(3R,4S)-4-fluoropiperidin-3-il]pirimidin-5-carboxamida	

DATOS FARMACOLÓGICOS

Las personas del oficio de nivel medio pueden variar los siguientes protocolos.

Generación del constructo de DGAT2 humana (hDGAT2)

Se generó un constructo para hDGAT2 con una etiqueta FLAG en el terminal N (un octapéptido con la secuencia de aminoácidos de AspTyrLysAspAspAspLys). Para el constructo de hDGAT2 etiquetada con FLAG, el cADN de hDGAT2 se sintetizó a medida en Genscript y se clonó en el vector pFastBac1 (Invitrogen) mediante el uso de enzimas de restricción BamHI/XhoI para generar un constructo pFastBac1-FLAG-hDGAT2 etiquetada con FLAG en el terminal N (aminoácidos 1-388). El constructo se confirmó mediante secuenciación en ambas direcciones.

Expresión de DGAT2 y preparación de la fracción de membrana de DGAT2

Se generó baculovirus recombinante para hDGAT2 etiquetada con FLAG en células de insectos SF9 mediante el uso del sistema de expresión de baculovirus Bacto-Bac (Invitrogen) de acuerdo con el protocolo del fabricante. Para la expresión de hDGAT2, las células SF9 (20 l) cultivadas en medio Sf900II se infectaron con baculovirus de hDGAT2 en múltiples infecciones de 1 en una bolsa Wave del sistema biorreactor Wave 20/50P (GE Healthcare). Después de 40 horas de infección, las células luego se recolectaron mediante centrifugación en 5000 x g. Los pelets celulares se lavaron mediante resuspensión en solución salina amortiguada con fosfato (PBS) y se recolectaron mediante centrifugación a 5000 x g. La pasta celular se congeló en N₂ líquido y se almacenó a -80 °C hasta que fue necesario. Todas las operaciones fueron por debajo de 4 °C, a menos que se indique lo contrario. Las células se volvieron a suspender en amortiguador de lisis (50 mM de Tris-HCl, pH 8,0, 250 mM de sacarosa), lo que incluyó 1 mM de ácido etilendiamintetraacético (EDTA) y el cóctel inhibidor de la proteasa completo (Roche Diagnostics) en una relación de 3 ml de amortiguador por 1 g de pasta celular. Las células se lisaron mediante homogeneizador Dounce. Los residuos celulares se retiraron mediante centrifugación a 1000 x g durante 20 min, y el sobrenadante se centrifugó a 100.000 x g durante 1 hora. El pelet resultante se enjuagó tres veces al llenar tubos de ultracentrifugado hasta la parte superior con PBS helado antes de la decantación. El pelet lavado se volvió a suspender con agitación suave durante 1 hora en amortiguador de lisis que contenía 8 mM de 3-[(3-colamidopropil)dimetilamonio]-1-propansulfonato (CHAPS) en una relación de 1 ml de amortiguador por 1 g de la pasta celular original y se centrifugó nuevamente a 100.000 x g durante 1 hora. El sobrenadante resultante se dividió en alícuotas, se congeló rápidamente en N₂ líquido y se almacenó a -80 °C hasta su uso.

Ensayo de DGAT2 *in vitro* y determinación de valores IC₅₀ para inhibidores de DGAT2

Para la determinación de los valores IC₅₀, las reacciones se llevaron a cabo en

placas de polipropileno blancas de 384 cavidades (Nunc) en un volumen total de 20 μ l. A 1 μ l de compuestos disueltos en 100 % de DMSO y colocado en forma de gotas en el fondo de cada cavidad, se agregaron 5 μ l de 0,04 % de albúmina de suero bovino (BSA) (ácido graso libre, Sigma Aldrich), y la mezcla se incubó a temperatura ambiente durante 15 minutos. Las fracciones de membrana de hDGAT2 se diluyeron en 100 mM DE Hepes-NaOH, pH 7,4, 20 mM de $MgCl_2$ que contenían 200 nM de metil araquidonil fluorofosfonato (Cayman Chemical; que se secó de una solución en reserva de acetato de etilo en gas de argón y se disolvió en DMSO como 5 mM de reserva). Se agregaron 10 μ l de esta solución de la enzima de trabajo a las placas y la incubación continuó durante 2 horas a temperatura ambiente. Se iniciaron las reacciones de DGAT2 mediante la adición de 4 μ l de sustratos que contenían 30 μ M de [$1-^{14}C$]decanoil-CoA (sintetizado a medida por Perkin Elmer, 50 mCi/mmol) y 125 μ M de 1,2-didecanoil-*sn*-glicerol (Avanti Polar Lipids) disueltos en 12,5 % de acetona. Las mezclas de reacción se incubaron a temperatura ambiente durante 40 min, y las reacciones se detuvieron mediante la adición de 5 μ l de 1 % de H_3PO_4 . Después de la adición de 45 μ l de MicroScint-E (Perkin-Elmer), las placas se sellaron con cubiertas Top Seal-A (Perkin-Elmer) y se logró la división de fases de sustratos y productos mediante el uso de un agitador orbital de microplacas HT-91100 (Big Bear Automation, Santa Clara, CA). Las placas se centrifugaron a 2000 x g durante 1 minuto en un centrifugador Allegra 6R (Beckman Coulter) y luego se sellaron nuevamente con cubiertas frescas antes de la lectura en un contador de centelleo 1450 Microbeta Wallac Trilux (Perkin Elmer). La actividad de DGAT2 se midió cuantificando el producto generado [^{14}C]tridecanoilglicerol en la fase orgánica superior.

La actividad de fondo obtenida mediante el uso de 50 μ M de ((*R*)-1-(2-((*S*)-1-(4-cloro-1*H*-pirazol-1-il)etil)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-5-il)piperidin-3-il)(pirrolidin-1-il)metanona (WO 2013150416, Ejemplo 196-A) para la inhibición completa de DGAT2 se sustrajo de todas las reacciones. Los inhibidores se evaluaron en once concentraciones diferentes para generar valores IC_{50} para cada compuesto. Las once concentraciones de inhibidor generalmente usadas incluyeron 50, 15,8, 5, 1,58, 0,50, 0,16, 0,05, 0,016, 0,005, 0,0016, y 0,0005 μ M. Los datos se representaron como un porcentaje de inhibición con respecto a la concentración de inhibidor y se ajustaron a la ecuación, $y = 100/[1 + (x/IC_{50})^z]$, en donde IC_{50} es la concentración de inhibidor a 50 % de inhibición, y z es la pendiente Hill (la pendiente de la curva en su punto de inflexión).

La Tabla 4 a continuación proporciona los valores IC_{50} de los ejemplos para la inhibición de DGAT2 de acuerdo con el ensayo descrito anteriormente. Los resultados

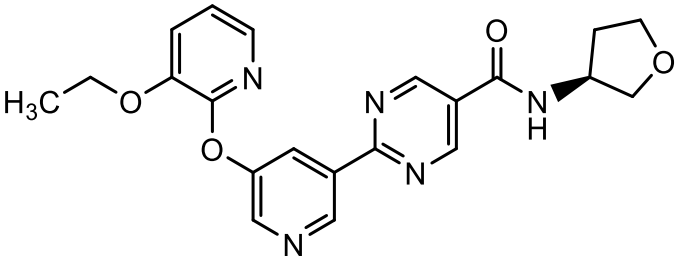
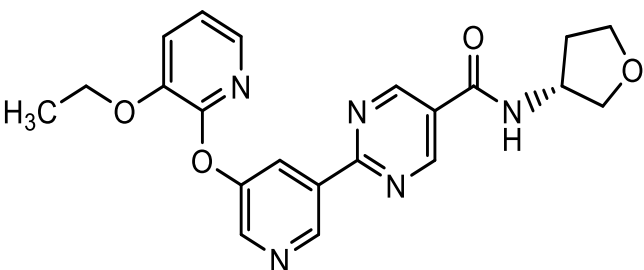
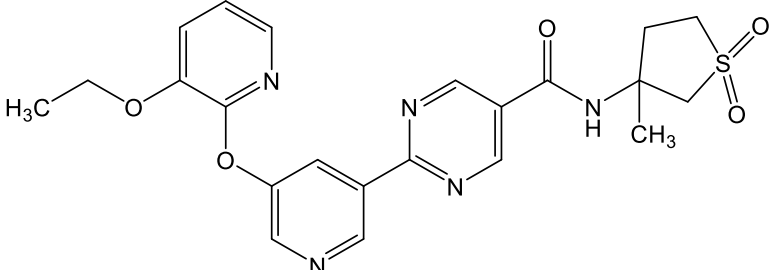
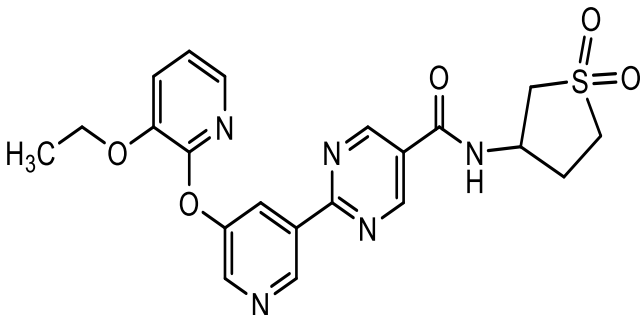
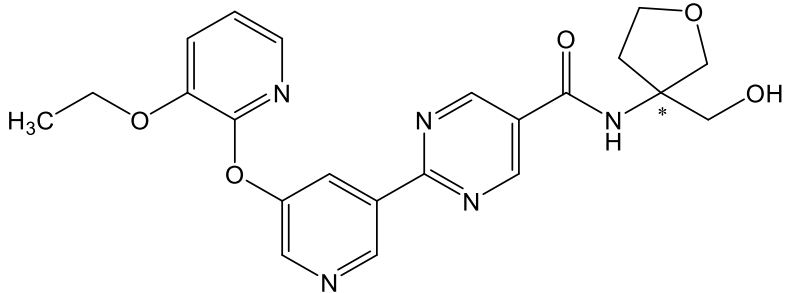
se informaron como los valores IC₅₀ de la media geométrica, con la cantidad de réplicas (n) mostradas.

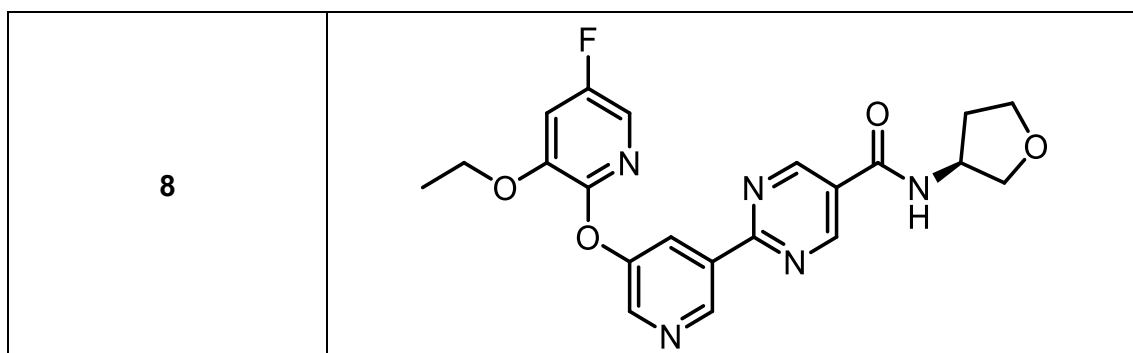
Tabla 4. Valores IC₅₀ de los ejemplos para la inhibición de DGAT2

Ejemplo	IC₅₀ de DGAT2 [nM]	n	Ejemplo	IC₅₀ de DGAT2 [nM]	n
1	5,8	8	2	8,6	13
3	40	15	4	10	22
5	110	11	6	80	7
7	42	5	8	650	3
9	19	6	10	39	3
11	4,4	3	12	590	9
13	57	3	14	3100	3
15	3300	3	16	480	3
17	230	3	18	140	3
19	240	3	20	2100	3
21	5000	3	22	21000	1
23	14000	1	24	16000	1
25	200	5	WO2018033832 Ej. 1	17	6
WO2018033832 Ej. 2	200	3	WO2018033832 Ej. 3,1	13	4
WO2018033832 Ej. 3,3	200	3	WO2018033832 Ej. 6a	25	9
WO2018033832 Ej. 6b	29	9	WO2018033832 Ej. 8	3,3	8

En donde los Ejemplos de WO2018033832 mencionados en la presente se muestran en la Tabla 4A a continuación:

Tabla 4A: Estructuras químicas para Ejemplos de WO2018033832 (nota: configuraciones de estereoquímica que se muestran a continuación como se muestra/describe en WO2018033832)

Número de ejemplo	Estructura química
1	
2	
3,1	
3,3	
6a y 6b	



Determinación de valores IC₅₀ para los inhibidores de DGAT2 en hepatocitos humanos

Para la evaluación de los efectos de los inhibidores de DGAT2 en un entorno a base de células, los hepatocitos humanos criopreservados (Lote DOO, Celsis, Baltimore, MD) se descongelaron y se colocaron en placas cubiertas con colágeno tipo I de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Después de un período de recuperación de 18 horas durante la noche, las células se revistieron con medio que contenía 250 µg/ml de matriz de membrana basal Geltrex (Thermo Fisher). Al día siguiente, el medio se aspiró y se reemplazó por medio E de Williams sin suero (Thermo Fisher) que contenía 400 µM de dodecanoato de sodio (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) y 2 mM de GlutaMAX (Thermo Fisher). Cuarenta y cinco minutos después, se agregó un inhibidor de DGAT1 selectivo (Ejemplo 2, WO2009016462, preparado como reservas 100X en 25 % de DMSO, 75 % de PBS) a todas las cavidades a una concentración final (3 µM) que eliminó completamente la actividad endógena de DGAT1. Los inhibidores de DGAT2 se agregaron luego a la concentración final deseada. Después de una preincubación de 15 minutos, se agregaron 0,2 µCi de [¹⁴C(U)]-glicerol (Perkin Elmer) a cada cavidad luego de una incubación de 3 horas. En ese momento, se retiró el medio, y las células se lisaron mediante agitación orbital en una relación de alcohol de isopropilo: tetrahidrofurano (9:1) durante 15 minutos antes de la centrifugación a 3000 rpm durante 10 minutos. Los lípidos radioetiquetados se resolvieron usando un sistema de solventes mediante cromatografía de capa delgada en donde el solvente consistía en hexanos: dietiléter: ácido acético glacial (75:23:2, v/v/v). Después de la separación, los lípidos radioetiquetados se visualizaron usando un sistema de placas de fósforo fotoestimulable Typhoon 9500 (GE). Las máximas concentraciones inhibitoras medias (valores IC₅₀) se determinaron mediante análisis de regresión no lineal del % de inhibición de la curva de respuesta a la dosis usando GraphPad Prism (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA).

La Tabla 5 a continuación proporciona los valores IC_{50} de los ejemplos seleccionados para la inhibición de DGAT2 en hepatocitos humanos de acuerdo con el ensayo descrito anteriormente. Los resultados se informaron como los valores IC_{50} de la media geométrica, con la cantidad de réplicas (n) mostradas.

Tabla 5. Valores IC_{50} de los Ejemplos para la inhibición de DGAT2 en hepatocitos humanos

Ejemplo	IC_{50} de DGAT2 [nM]	n
2	4,1	4
4	11	13
6	2,4	2
13	3,8	2
25	>130	3

Ejemplo	IC_{50} de DGAT2 [nM]	n
3	23	3
5	26	6
7	100	3
18	20	2
WO2018033832 Ej. 1	2,8	10

Efectos *in vivo* de inhibidores de DGAT2 en niveles de plasma y triglicéridos hepáticos

El modelo de dieta de patrón occidental en ratas se utilizó para evaluar los efectos del tratamiento del inhibidor de DGAT2 en la producción de triglicérido en plasma y el contenido de triglicérido hepático *in vivo*. Las ratas Sprague-Dawley macho se alojaron en condiciones de laboratorio estándares en un ciclo de 12 horas de luz, 12 horas de oscuridad (luces encendidas a 06:00). Dos semanas antes del inicio del estudio los animales se colocaron bajo dieta con alto contenido de grasa, sacarosa y colesterol (D12079b, proporcionado por Research Diets, New Brunswick, NJ). Esta dieta proporciona ~43 % de kilocalorías de carbohidrato y ~41 % de kilocalorías de grasa. El Ejemplo 4 se administró por vía oral como una solución (10 ml/kg de volumen de dosis) en 0,5 % de metilcelulosa en agua desionizada, pH 7,0-7,5 (la metilcelulosa se obtuvo de Sigma-Aldrich, St. Louis, MO). Los animales tratados con vehículo recibieron una solución acuosa de 0,5 % de metilcelulosa solo en agua desionizada, pH 7,0-7,5. Cada tratamiento se administró por vía oral dos veces al día durante 7 días a las 08:00 y 16:00 a 3, 10, 30 y 100 mg/kg, para una dosis diaria total de 6, 20, 60 y 200 mg/kg/día. El día 8, los animales recibieron una dosis con vehículo o Ejemplo 4 a las 10:00 y se los sometió a eutanasia 2 horas después de la dosis. Las ratas se sometieron a eutanasia mediante asfixia por dióxido de carbono y la sangre se recolectó mediante la vena lateral de la cola. Los niveles de TG en plasma se determinaron con el uso de un analizador

Roche Hitachi Chemistry de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Roche Diagnostics Corporation, Indianapolis, IN) y los datos se analizaron con el uso de GraphPad Prism (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA). El hígado se recolectó en la eutanasia para la determinación de triglicérido hepático y el tejido se congeló inmediatamente en nitrógeno líquido, y se mantuvo a -80°C hasta el análisis. Para la evaluación de los niveles de triglicéridos hepáticos, se pulverizó una sección de hígado envuelto en papel de aluminio con un martillo en un bloque de calor de aluminio en un baño de nitrógeno líquido. La pulverización del tejido hepático produjo un polvo homogéneo. Se mezclaron amortiguador de homogeneización, Tris pH 7,4, 98,9 mililitros de 0,9 % de NaCl y 100 microlitros de Triton X 100 en una placa de agitación durante 10 minutos antes del uso. Se pesaron los pesos de muestra de aproximadamente 100 miligramos de tejido hepático homogéneo y se colocaron en tubo de matriz de lisado D (MP Biomedicals, Catálogo N.º 6913-100) con 1 ml de amortiguador de homogeneización. Todas las muestras se colocaron luego en FastPrep FP120 (MP Biomedicals, Catálogo N.º 6001-120) durante 2 minutos o hasta que el tejido se haya homogeneizado. Todas las muestras se hicieron girar durante 30 segundos a 10.000 g, para depurar la espuma de la homogeneización. Se transfirieron 50 microlitros de muestra a una placa de mezcla estéril con 450 microlitros de solución salina amortiguada con fosfato de Dulbecco (DPBS) para crear una dilución 1:10. Tras la resuspensión de la nueva muestra, todas las muestras se transfirieron en tubos de muestra para el analizador Siemens Advia XPT Clinical. El ensayo de triglicéridos se llevó a cabo a través de la absorbancia y se informó como miligramos por decilitro. Los triglicéridos se normalizaron luego por gramo de tejido en Microsoft Excel. Como se sintetiza en las Figuras 4 y 5, hubo una reducción dependiente de la dosis en los triglicéridos en plasma (hasta ~70 %) e hígado (hasta 48 %) en ratas a las que se administró el Ejemplo 4. En el caso de una respuesta circulante del triglicérido, los niveles resultantes observados en el Ejemplo 4 alcanzaron los de los animales de vehículo a los que se suministró alimento.

La Figura 4 representa los efectos de dosis múltiples del Ejemplo 4 en triglicérido en plasma en ratas Sprague-Dawley alimentadas con dieta de patrón occidental, en donde los niveles de triglicérido en plasma se determinaron de sangre extraída de la vena lateral de la cola después de 2 horas de la dosis final del Ejemplo 4. Los datos son media $\pm$ desviación estándar de 8 animales. La diferencia entre medias de grupos con respecto a vehículo se llevó a cabo mediante un ANOVA de un factor seguido de una prueba de múltiples comparaciones de Dunnett. **** = $p < 0,0001$ con respecto a

animales de vehículo con dieta de patrón occidental.

La Figura 4 representa los efectos de dosis múltiples del Ejemplo 4 en triglicérido hepático en ratas Sprague-Dawley alimentadas con dieta de patrón occidental, en donde los niveles de triglicérido hepático se determinaron de sangre extraída de la vena lateral de la cola después de 2 horas de la dosis final del Ejemplo 4. Los datos son media $\pm$ desviación estándar de 8 animales. La diferencia entre medias de grupos con respecto a vehículo con dieta de patrón occidental se llevó a cabo mediante un ANOVA de un factor seguido de una prueba de múltiples comparaciones de Dunnett. $*=p<0,05$, $*** = p<0,001$, $****=p<0,00011$ con respecto a animales de vehículo con dieta de patrón occidental.

Determinación de pKa

Los compuestos ejemplificados se diseñaron para que sean inhibidores básicos de DGAT2. La pKa de ejemplos seleccionados se determinó mediante Analiza, Inc. (Cleveland, OH), de acuerdo con el método de electroforesis capilar descrito en Shalaeva, M., et al. 2008, *J. Pharm. Sci.*, 97, 2581-2606. La Tabla 6 a continuación muestra la pKa más básica determinada para los ejemplos y se presenta como la media con la cantidad de réplicas (n). Los compuestos básicos se asocian a un mayor volumen de distribución *in vivo* (Obach, R. S., et al. 2009, *Drug Metab. Dispos.*, **36**, 1385-1405; Smith, D. A., et al. 2015, *J. Med. Chem.*, **58**, 5691-5698).

Tabla 6. pKa más básica para ejemplos seleccionados

Ejemplo	pKa básica	n	Ejemplo	pKa básica	n
1	7,7	1	2	7,3	3
3	8,1	3	4	7,5	3
5	7,3	2	6	7,4	2
7	7,5	1	8	5,3	1
9	4,0	1	10	4,7	1
11	4,5	1	12	7,5	1
13	6,7	2	14	9,5	1
16	6,4	1	17	5,4	2
18	5,2	1	19	5,2	1
21	9,1	1	25	6,8	1
WO2018033832 Ej. 1	2,4	1	WO2018033832 Ej. 2	2,5	1
WO2018033832 Ej. 6a	2,3	1	WO2018033832 Ej. 6b	2,4	1

Determinación de la depuración intrínseca en hepatocitos humanos (método de

transmisión)

Se usó el método de transmisión de hepatocitos para la medición de la depuración intrínseca (CL_{int}) (Di, I., et al. 2012, *Drug Metab. Dispos.*, **40**, 1860-1865 y Di, I., et al. 2013, *Drug Metab. Dispos.*, **41**, 2018-2023). Se usaron hepatocitos humanos criopreservados (Lote DCM de BioreclamationIVT). Tras el descongelamiento, los hepatocitos se suspendieron nuevamente en medio E de Williams (fórmula a medida N.º 91-5233EA; Gibco, Grand Island, NY) enriquecido con Hepes y Na_2CO_3 . Las células se contaron usando el método de exclusión de azul de triptano, y las placas de hepatocitos de 24 cavidades que contenían 0,5 millones de células/ml se enriquecieron con los compuestos de prueba a una concentración final de 1 μM (dimetilsulfóxido, concentración final 0,025 %; metanol, concentración final 0,1125 %), en un volumen de incubación final de 0,50 ml. Las placas se incubaron a 37 °C con 95 % de aire/5 % de CO_2 , 75 % de humedad relativa durante 4 h a 150 rpm en una incubadora humidificada. En tiempo 0 y 4 h, se retiraron 25 μl de suspensión de hematocitos de la incubación y se agregaron a 50 μl de acetonitrilo helado (que contenía metoprolol, indometacina y terfenadina como estándares internos) para inactivar la reacción. Las muestras se centrifugaron (Eppendorf, Hauppauge, NY) a 3000 rpm (1439 x g) durante 10 min a temperatura ambiente, y se transfirieron 50 μl de sobrenadante a una placa limpia, se secaron completamente y se reconstituyeron antes del análisis de cromatografía de líquidos/espectrometría de masa en tándem (LC-MS/MS). Se centrifugaron las suspensiones de hematocitos restantes en la placa de incubación (3000 rpm, 1439 x g, 10 min, temperatura ambiente). El sobrenadante de 300 μl se transfirió a una placa limpia de 24 cavidades y se almacenó a -80 °C hasta el próximo experimento de transmisión. Para el segundo experimento de transmisión, las placas de sobrenadante primero se calentaron hasta temperatura ambiente durante 30 minutos, luego hasta 37 °C durante 30 min, y se agregaron hepatocitos a las muestras para obtener una densidad celular final de 0,5 millones de células/ml. Las placas se incubaron a 37 °C durante 4 h, se obtuvieron muestras y se procesaron como se describió anteriormente. Se llevaron a cabo cinco transmisiones para obtener un tiempo de incubación total de 20 h, con puntos de muestra en (0, 4, 8, 12, 16 y 20 h). Se usaron las concentraciones del compuesto de prueba que se determinaron en cada punto temporal mediante el análisis de LC-MS/MS para calcular la depuración intrínseca.

La Tabla 7 a continuación muestra la depuración intrínseca para los Ejemplos seleccionados según se determina mediante el método descrito anteriormente. Los datos se presentan como la media +/- desviación estándar con la cantidad de réplicas

(n) que se muestra.

Tabla 7: $CL_{int,u}$ en el ensayo de hepatocito de transmisión

Número de ejemplo	CL_{int} (μ l/min/millón de células) (+/- desviación estándar)	n
4	0,98 +/- 0,22	2
5	1,9 +/- 0,47	2
WO2018033832 Ej. 1	3,9 +/- 0,52	6
WO2018033832 Ej. 2	4,9 +/- 0,17	2
WO2018033832 Ej. 6a	3,2 +/- 0,21	2
WO2018033832 Ej. 6b	2,9 +/- 0,057	2

Determinación de alto rendimiento de depuración intrínseca en hepatocitos humanos

El ensayo de estabilidad de hepatocitos humanos de alto rendimiento se llevó a cabo en un formato de 384 cavidades (Di, I., et al. 2012, *Eur. J. Med. Chem.*, **57**, 441-448). Los hepatocitos humanos criopreservados agrupados de 10 donantes se adquirieron de BioreclamationIVT (Baltimore, MD, Lote DCM). Los hepatocitos humanos criopreservados se descongelaron y se suspendieron nuevamente en medio E de Williams (WEM GIBCO, fórmula a medida # A28859EA) enriquecido con HEPES y Na_2CO_3 . Las células se contaron usando el método de exclusión de azul de triptano. El dosificador de líquidos Multidrop® (Multidrop DW, Thermo Scientific, Waltham, MA) se usó para agregar las suspensiones de hepatocitos a las placas de 384 cavidades. Las placas celulares se cubrieron y se transfirieron a una estación de trabajo Sciclone® ALH 3000 (Caliper Life Sciences, Hopkinton, MA), equipada con 2 intercambiadores de calor Mecour de 6 posiciones. Los compuestos de prueba se diluyeron en la Sciclone® con amortiguador y se agregaron a los hepatocitos. La incubación final contenía 0,5 millones de células/ml y 1 μ M de compuesto de prueba en 15 μ l de volumen total con 0,01 % de DMSO. La incubación se llevó a cabo a 37 °C. En diversos puntos temporales (0, 3, 10, 30, 60, 120, 240 min), las reacciones se inactivaron con acetonitrilo frío que contenía estándar interno (Ejemplo 39A, WO1999/57125). Las muestras se centrifugaron (Eppendorf, Hauppauge, NY) a 3000 rpm durante 5 min a 4 °C. Los sobrenadantes se transfirieron usando el manipulador de líquidos BioMek® FX (Beckman Coulter, Inc. Danvers MA) a placas nuevas con adición de agua, las cuales se sellaron antes del análisis de LC-MS/MS. La Tabla 8 a continuación muestra la depuración intrínseca para

ejemplos seleccionados según se determina en el ensayo de hepatocitos humanos de alto rendimiento descrito anteriormente. Los datos se presentan como la media +/- desviación estándar con la cantidad de réplicas (n) que se muestra.

Tabla 8: CL_{int} en el ensayo de hepatocitos humanos de alto rendimiento

Ejemplo	CL _{int} (μl/min/10 ⁶ células) (+/- desviación estándar)	n	Ejemplo	CL _{int} (μl/min/10 ⁶ células) (+/- desviación estándar)	n
1	<2,7 +/- 0,72	10	2	3,6 +/- 1,2	22
3	<1,9 +/- 0,35	20	4	<1,8 +/- 0,041	14
5	<1,9 +/- 0,39	10	6	4,7 +/- 1,0	12
7	<1,8 +/- 0,30	10	8	12 +/- 1,6	2
9	54 +/- 8,4	2	10	27 +/- 3,6	2
11	38 +/- 2,0	2	12	<2,6 +/- 0,56	10
13	12 +/- 0,23	2	14	<1,8 +/- 0,11	10
15	5,3 +/- 0,68	2	16	4,7 +/- 1,4	10
17	8,3 +/- 0,71	2	18	9,3 +/- 1,2	2
19	14 +/- 1,4	2	25	6,5 +/- 2,1	10
WO2018033832 Ej. 1	<3,8 +/- 1,1	15	WO2018033832 Ej. 2	4,7 +/- 0,55	4
WO2018033832 Ej. 3,1	9,3 +/- 1,1	2	WO2018033832 Ej. 3,3	5,1 +/- 0,69	2
WO2018033832 Ej. 6a	<3,8 +/- 1,1	4	WO2018033832 Ej. 6b	<3,3 +/- 0,49	4
WO2018033832 Ej. 8	9,3 +/- 0,52	2			

Determinación de la depuración intrínseca en microsomas de hígado humano

El ensayo de estabilidad de microsomas humanos de alto rendimiento se llevó a cabo en un formato de 384 cavidades (Di, I., et al. 2012, *Eur. J. Med. Chem.*, **57**, 441-448). Toda manipulación de líquidos e incubación se llevó a cabo usando una Biomek FX (Beckman Coulter, Inc., Indianapolis, IN), equipada con posiciones de cubierta calentadas con un Mecour de tres posiciones. Los microsomas de hígado humano agrupados de 50 donantes (Lote: HLM-103) se adquirieron de BD Biosciences (Bedford, MA). Cada incubación contenía compuesto de prueba (1 μM), microsomas de hígado humano (0,25 μM de proteína CYP equivalente a 0,806 mg/ml de concentración de proteínas), NADPH 20,9 mM, MgCl₂ (3,3 mM) y amortiguador de fosfato de potasio (100 mM a pH 7,4). El volumen de reacción final fue 45 μl que contenían 0,1 % de DMSO. Las incubaciones se llevaron a cabo a 37 °C. En diversos puntos temporales (por ejemplo 1, 4, 7, 12, 20, 25, 45 y 60 min), se agregó acetonitrilo frío con estándar interno de espectrometría de masa (MS) (Ejemplo 39A, WO1999/57125) para inactivar la

reacción. Las placas se centrifugaron a 3000 rpm durante 1 min a 4 °C (Sorvall RC 3C Plus, Thermo Scientific, Waltham, MA). Las placas se sellaron y posteriormente se analizaron usando LC-MS/MS. Las placas de control se prepararon de la misma manera sin agregar el cofactor de NADPH para monitorear cualquier disminución no catalizada por CYP/FMO. La Tabla 9 a continuación muestra la depuración intrínseca para ejemplos seleccionados según se determina en el ensayo de microsomas de hígado humano descrito anteriormente. Los datos se presentan como la media +/- desviación estándar con la cantidad de réplicas (n) que se muestra.

Tabla 9: CL_{int} en el ensayo de microsomas de hígado humano

Ejemplo	CL _{int} (µl/min/mg) (+/- desviación estándar)	n	Ejemplo	CL _{int} (µl/min/mg) (+/- desviación estándar)	n
1	<7	1	2	<7	3
3	<7	3	4	<7	6
5	<7	3	6	<7,8 +/- 1,5	3
7	<7	1	8	<14 +/- 10	2
9	>290	2	10	270 +/- 12	2
11	>290	2	12	<7	1
13	35 +/- 3,4	3	14	<8	1
15	21	1	16	17	1
17	23	1	18	19 +/- 1,5	2
19	34 +/- 1,9	2	20	8,9	1
21	<8	1	22	<8	1
23	<8	1	24	<8	1
25	11 +/- 2,3	3	WO2018033832 Ej. 1	11 +/- 2,9	2
WO2018033832 Ej. 2	17 +/- 1,3	2	WO2018033832 Ej. 3,1	30	1
WO2018033832 Ej. 3,3	<8	1	WO2018033832 Ej. 6a	13 +/- 2,0	2
WO2018033832 Ej. 6b	<11 +/- 3,5	3	WO2018033832 Ej. 8	<9,6	3

Determinación de solubilidad termodinámica en diversos medios

La solubilidad de ingredientes farmacéuticos activos es una característica importante para determinar el rendimiento biológico y la facilidad de formulación durante el desarrollo del fármaco, en donde se prefiere una alta solubilidad (Klein, S. 2010, *The AAPS Journal*, **12**, 397-406; Di, I., et al 2012, *Drug Disc. Today*, **17**, 486-495). La solubilidad termodinámica se midió en diversos medios biorrelevantes, como se muestra en la Tabla 10. Una muestra de prueba de sólido cristalino (~7 mg) se combinó en un vial con 1 ml de la solución amortiguadora relevante y la mezcla se agitó en vórtice para

combinar. Si el sólido se disolvió completamente, se agregó sólido adicional con agitación en vórtice hasta que se obtuvo una solución saturada. La solución saturada/mezcla sólida se tapó y se sometió a ciclos de temperatura de la siguiente manera: 1 min a 25 °C; 8 h a 40 °C; 5 h a 15 °C y 12 h a 25 °C. La mezcla se filtró en un dispositivo de filtración centrífuga (filtro de PVDF de 0,22 µm, MilliporeSigma, Milwaukee, WI) a 13.000 rpm y la concentración del compuesto de prueba en el filtrado se determinó mediante HPLC/UPLC con referencia a una curva estándar de tres puntos. Solución salina amortiguada con fosfato (PBS, pH 6,8, 50 mM de amortiguador de fosfato, 250 mM de NaCl). Fluido gástrico simulado (SGN pH 1,2, receta de USP). Fluido gástrico simulado en ayunas (FaSSIF, 3 mM de taurocolato de sodio, 0,75 mM de fosfolípidos de lecitina de soja, 50 mM de amortiguador de fosfato, fuerza iónica ajustada a 250 mM con NaCl, pH 6,8) y fluido gástrico simulado después de la ingestión (FeSSIF, 15 mM de taurocolato de sodio, 3,75 mM de fosfolípidos de lecitina de soja, 144 mM de ácido acético, 50 mM de amortiguador de fosfato, fuerza iónica ajustada a 250 mM con NaCl, pH 6,8).

Tabla 10: Solubilidad termodinámica en medio biorrelevante

Número de ejemplo	Amortiguador	Solubilidad (mg/ml)
4	PBS, pH 6,8	0,58
WO2018033832 Ej. 1, Forma 1	PBS, pH 6,8	0,043
WO2018033832 Ej. 1, Forma 2	PBS, pH 6,8	0,060
4	SGN pH 1,2	>27
WO2018033832 Ej. 1, Forma 1	SGN pH 1,2	0,078
WO2018033832 Ej. 1, Forma 2	SGN pH 1,2	1,082
4	FaSSIF pH 6,8	0,955 (n=2)
WO2018033832 Ej. 1, Forma 1	FaSSIF pH 6,8	0,069
WO2018033832 Ej. 1, Forma 2	FaSSIF pH 6,8	0,093

A lo largo de la presente solicitud, se hace referencia a distintas publicaciones. Las descripciones de estas publicaciones se incorporan en la presente por referencia en su totalidad para todos los fines.

Será evidente para las personas del oficio de nivel medio que se pueden realizar varias modificaciones y variaciones en la presente invención sin apartarse del alcance

o espíritu de la invención. Otras formas de realización de la invención serán evidentes para las personas del oficio de nivel medio a partir de la consideración de la memoria descriptiva y la práctica de la invención divulgada en la presente. Se pretende que la memoria descriptiva y los ejemplos sean considerados de ejemplo solamente, y que el verdadero alcance y espíritu de la invención se indique en las reivindicaciones que siguen.