

ISOXAZOLIDINAS COMO INHIBIDORES DE RIPK1 Y USO DE ESTAS

ANTECEDENTES

Aunque la inflamación puede ser un mecanismo protector en respuesta a estímulos dañinos, tales como la invasión de patógenos y los daños en los tejidos, la inflamación crónica es un factor subyacente importante en muchas enfermedades humanas tales como la neurodegeneración, artritis reumatoide, enfermedades autoinmunitarias e inflamatorias, y el cáncer. De forma similar, la activación de las vías de muerte celular, tales como la necrosis y la apoptosis, que son útiles a la hora de eliminar células infectadas o dañadas, también es un mecanismo subyacente importante para enfermedades humanas, incluidas las enfermedades neurodegenerativas crónicas y agudas. La proteína··cinasa 1 que interacciona con receptores (UniProtKB Q13546) es un regulador clave de la inflamación, la apoptosis y la necroptosis. La proteína··cinasa 1 que interacciona con receptores desempeña una función importante en la modulación de las respuestas inflamatorias mediadas por el factor nuclear potenciador de la cadena ligera kappa de los linfocitos B activados (NF-κB). Las investigaciones más recientes han mostrado que su actividad cinásica controla la necroptosis, una forma de muerte celular necrótica, que tradicionalmente se había considerado que era pasiva y no estaba regulada, y se caracteriza por una morfología singular. Además, la proteína··cinasa 1 que interacciona con receptores forma parte de un complejo proapoptótico que indica su actividad en la regulación de la apoptosis.

La proteína··cinasa 1 que interacciona con receptores está sometida a mecanismos reguladores complejos e intrincados que incluyen la ubiquitilación, desubiquitilación y fosforilación. Estos eventos reguladores determinan de forma colectiva si una célula sobrevivirá y activará una respuesta inflamatoria o morirá mediante apoptosis o necroptosis. La desregulación de la señalización de la proteína··cinasa 1 que interacciona con receptores puede conducir a una inflamación excesiva o a la muerte celular y, por el contrario, las investigaciones han demostrado que la inhibición de la proteína··cinasa 1 que interacciona con

receptores puede ser una terapia eficaz para enfermedades que cursan con inflamación o muerte celular.

La inhibición de RIPK1 se ha identificado como un principio prometedor para hacer frente a diferentes enfermedades como la artritis reumatoide (AR), psoriasis, esclerosis múltiple, enfermedad de Alzheimer y enfermedad intestinal inflamatoria tal como la enfermedad de Crohn o la colitis ulcerosa (CU). Para tratar algunas de estas enfermedades, como la esclerosis múltiple (EM) y la enfermedad de Alzheimer, se necesita acceso al sistema nervioso central (SNC), mientras que para otras enfermedades, como la artritis reumatoide, psoriasis, enfermedad intestinal inflamatoria (EII), tal como la enfermedad de Crohn o la CU, no se necesita esencialmente acceso al SNC.

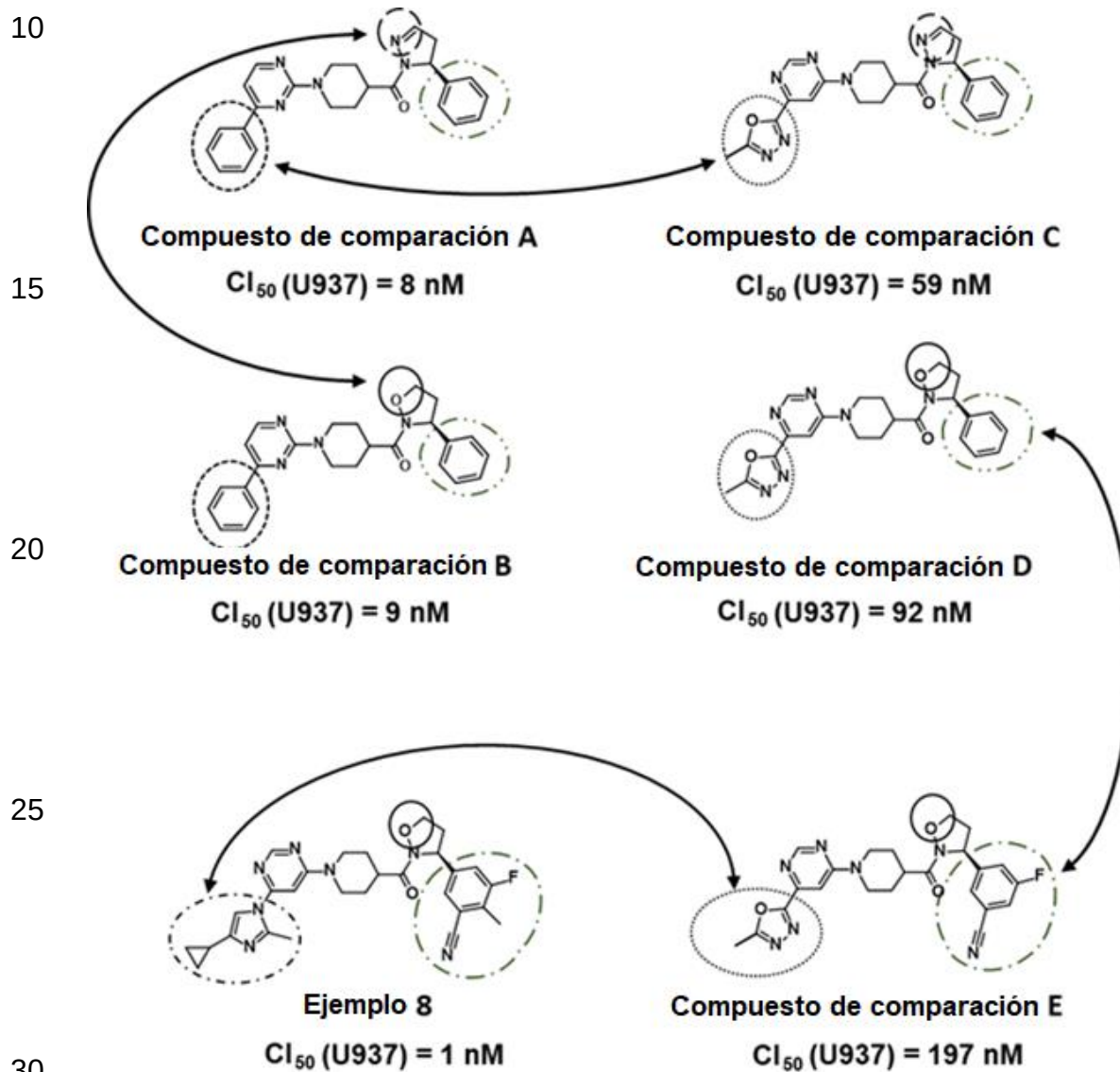
El inhibidor de RIPK1 más avanzado, GSK2982772 (derivado de oxazepinona divulgado en el documento WO2014/125444), se evaluó para la AR, psoriasis y CU en ensayos clínicos de fase II.

También hay constancia de dihidropirazoles e isoxazolidinas como inhibidores de RIPK1 (documentos WO2018092089, WO2019130230 de GSK). GSK dio a conocer dihidropirazoles con un sustituyente fenílico en isoxazolidina y pirimidina con una buena eficacia en la inhibición de RIPK1 (compuesto de comparación A, documento WO2018092089, Ejemplo 4, pCI50 = 8-9 (datos de GSK), CI50 (U937) = 8 nM, datos propios). La isoxazolidina análoga, el compuesto de comparación B, tiene la misma eficacia (CI50 (U937) = 9 nM, datos propios). El intercambio del sustituyente por un anillo de heteroarilo en el anillo de pirimidina conduce a un dihidropirazol menos eficaz (compuesto de comparación C, documento WO2018092089, Ejemplo 129, pCI50 = 7-9 (datos de GSK), pCI50 (U937) = 59 nM, datos propios). Para el mismo patrón de sustitución en la serie de las isoxazolidinas, la eficacia disminuyó aún más en comparación con la sustitución fenólica del compuesto de comparación B (compuesto de comparación D, CI50 (U937) = 92 nM, datos propios).

La introducción de sustituyentes, como F, Cl, CH₃ o CN, en el residuo de fenilo en la isoxazolidina condujo a un compuesto con una eficacia menor (compuesto de comparación E, CI₅₀ (U937) = 197 nM, datos propios).

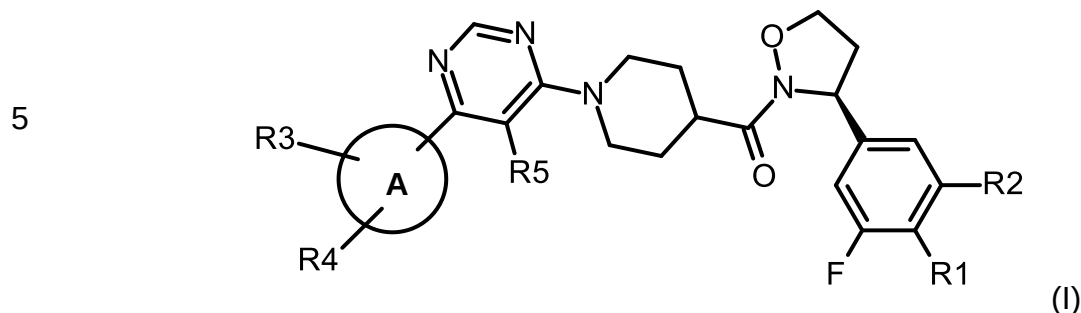
Sorprendentemente, el intercambio de 1,3,4-oxadiazol por anillos de 5 miembros heteroaromáticos de imidazol, pirazol y triazol sustituidos opcionalmente condujo a compuestos con una alta eficacia en la inhibición de RIPK1, p. ej., el ejemplo 8 con CI₅₀ (U937) = 1 nM (datos propios), véanse el esquema A y la tabla 1).

Esquema A:



SUMARIO

En el presente documento se divulgan compuestos de fórmula I:



en donde

10 A representa un anillo de heteroarilo de cinco miembros en el que se seleccionan 2 o 3 átomos del anillo independientemente de nitrógeno, que está sustituido opcionalmente con R3 y R4;

R1 representa H o CH₃;

R2 representa Cl, F o CN;

15 R3 representa H o CH₃;

R4 representa H, CH₃ o ciclopropilo;

R5 representa H o F;

o una sal, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de estos.

20 En otro aspecto se proporcionan métodos para preparar los compuestos y los intermedios de estos.

En un aspecto relacionado, en el presente documento se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la divulgación y un portador farmacéuticamente aceptable.

25 En otro aspecto, en el presente documento se proporciona un método de inhibición de la proteína·cinasa 1 que interacciona con receptores. Se proporcionan además métodos para tratar una enfermedad o trastorno mediado por la proteína·cinasa 1 que interacciona con receptores que comprenden administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto o una composición farmacéutica como se describe en el presente documento a un sujeto

30 que lo necesita. La divulgación también proporciona usos de los compuestos o

composiciones de estos en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad, trastorno o afección que está mediada (o mediada al menos en parte) por la proteína··cinasa 1 que interacciona con receptores.

Descripción detallada

5 Definiciones

Como se utiliza en el presente documento, la nomenclatura química, a menos que se defina de otro modo, tiene los significados que se utilizan en el campo técnico.

10 Como se utiliza en el presente documento, el término “anillo de heteroarilo de cinco miembros en el que se seleccionan de 2 a 3 átomos del anillo de nitrógeno”, por sí solo o como parte de otro sustituyente, se refiere a una estructura de anillo aromático monocíclico que contiene 5 átomos, donde de 2 a 3 de los átomos del anillo son heteroátomos de nitrógeno.

15 Por ejemplo, los grupos heteroarilo pueden ser heteroarilo C5, en donde 2 átomos de carbono del anillo se reemplazan por heteroátomos de nitrógeno; o heteroarilo C5, en donde 3 átomos de carbono del anillo se reemplazan por heteroátomos de nitrógeno. El grupo heteroarilo puede incluir grupos tales como imidazol, pirazol y triazol.

20 Los grupos heteroarilo pueden estar sustituidos o no sustituidos. Los grupos heteroarilo pueden unirse a través de cualquier posición del anillo. Por ejemplo, imidazol incluye 1-, 2-, 4- y 5-imidazol, pirazol incluye 1-, 3-, 4- y 5-pirazol, triazol incluye 1-, 4- y 5-triazol.

25 Como se utiliza en el presente documento, el término “excipiente farmacéuticamente aceptable” se refiere a una sustancia que facilita la administración de un agente activo a un sujeto. Por “farmacéuticamente aceptable” se entiende que el excipiente es compatible con los otros ingredientes de la composición farmacéutica y no es perjudicial para su receptor. Los excipientes farmacéuticos útiles en la presente divulgación incluyen, pero no se limitan a, aglutinantes, rellenos, disgregantes, lubricantes, deslizantes, recubrimientos, 30 edulcorantes, sabores y colorantes.

Como se utiliza en el presente documento, el término “sal” se refiere a sales de ácidos o bases de los compuestos divulgados en el presente documento. Los ejemplos ilustrativos de sales farmacéuticamente aceptables son sales de ácidos minerales, sales de ácidos orgánicos, sales de amonio cuaternario. Se entiende
5 que las sales farmacéuticamente aceptables son atóxicas.

Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos ácidos divulgados en el presente documento son sales formadas con bases, a saber, sales catiónicas tales como sales de metales alcalinos y alcalinotérreos.

De forma similar, también son posibles las sales de adición de ácidos, tales
10 como de ácidos minerales, ácidos carboxílicos orgánicos y sulfónicos orgánicos, p. ej., ácido clorhídrico, ácido metanosulfónico, ácido maleico, siempre que un grupo básico, tal como piridilo, forme parte de la estructura.

Se pueden regenerar las formas neutras de los compuestos poniendo en contacto la sal con una base o ácido y asilando el compuesto original de la manera
15 convencional. La forma original del compuesto difiere de las diferentes formas de sal en determinadas propiedades físicas, tales como la solubilidad en disolventes polares, pero por lo demás las sales son equivalentes a la forma original del compuesto a los efectos de la presente divulgación. Además de las formas de sal, en el presente documento se describen compuestos que están en una forma de
20 profármaco. Los profármacos de los compuestos descritos en el presente documento son aquellos compuestos que experimentan cambios químicos fácilmente en condiciones fisiológicas para proporcionar los compuestos de la presente divulgación. Adicionalmente, los profármacos se pueden convertir en los compuestos de la presente divulgación mediante métodos químicos o bioquímicos
25 en un ambiente *ex vivo*. Por ejemplo, los profármacos se pueden convertir lentamente en los compuestos de la presente divulgación cuando se colocan en un depósito de parche transdérmico con una enzima o reactivo químico adecuado.

“Tratamiento” o “tratar” es una estrategia para obtener resultados, que incluyen resultados clínicos, deseados o beneficiosos. Los resultados clínicos
30 deseados o beneficiosos pueden incluir uno o más de los siguientes: a) inhibir la

enfermedad o afección (p. ej., disminuir uno o más síntomas que son el resultado de la enfermedad o afección, y/o disminuir el alcance de la enfermedad o afección); b) ralentizar o detener el desarrollo de uno o más síntomas clínicos asociados con la enfermedad o afección (p. ej., estabilizar la enfermedad o afección, prevenir o retrasar el empeoramiento o la progresión de la enfermedad o afección, y/o prevenir o retrasar la diseminación (p. ej., metástasis) de la enfermedad o afección); y/o c) mitigar la enfermedad, es decir, provocar la regresión de síntomas clínicos (p. ej., mejorar el cuadro clínico, proporcionar la remisión parcial o total de la enfermedad o afección, potenciar el efecto de otra medicación, retrasar la progresión de la enfermedad, aumentar la calidad de vida y/o prolongar la supervivencia.

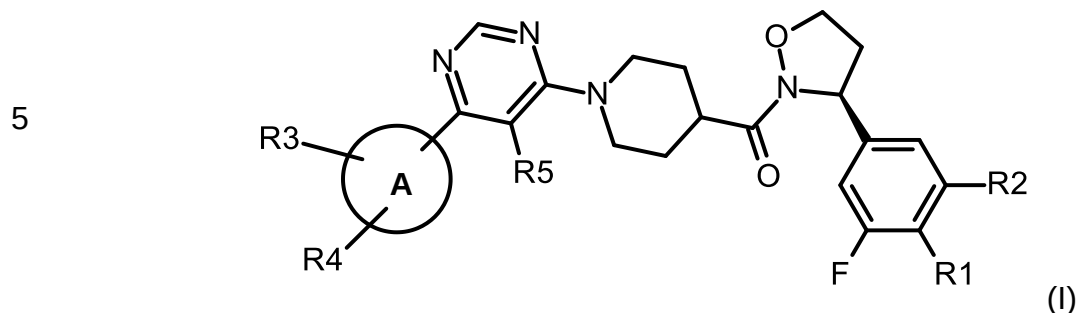
“Prevención” o “prevenir” significa cualquier tratamiento de una enfermedad o afección que hace que los síntomas clínicos de la enfermedad o afección no se desarrollen. Los compuestos se pueden administrar, en algunas realizaciones, a un sujeto que corre el riesgo de padecer o que tiene antecedentes familiares de la enfermedad o afección.

“Sujeto” se refiere a un ser humano que ha sido o que será el objeto de tratamiento. Los métodos descritos en el presente documento pueden ser útiles en la terapia humana.

El término “cantidad terapéuticamente eficaz” o “cantidad eficaz” de un compuesto de la divulgación o una sal, tautómero, estereoisómero, mezcla de estereoisómeros farmacéuticamente aceptable de este significa una cantidad suficiente para efectuar el tratamiento cuando se administra a un sujeto, para proporcionar un beneficio terapéutico tal como la mejora de los síntomas o la ralentización de la progresión de la enfermedad. Por ejemplo, una cantidad terapéuticamente eficaz puede ser una cantidad suficiente para disminuir un síntoma de una enfermedad o afección como se describen en el presente documento. La cantidad terapéuticamente eficaz puede variar dependiendo del sujeto, y la enfermedad o afección que se esté tratando, el peso y la edad del sujeto, la gravedad de la enfermedad o afección, y el modo de administración, los

cuales puede determinar fácilmente un experto en la técnica.

En el presente documento se divulgan compuestos de fórmula I:



en donde

10 A representa un anillo de heteroarilo de cinco miembros en el que se seleccionan 2 o 3 átomos del anillo independientemente de nitrógeno, que está sustituido opcionalmente con R3 y R4;

R1 representa H o CH₃;

R2 representa Cl, F o CN;

15 R3 representa H o CH₃;

R4 representa H, CH₃ o ciclopropilo;

R5 representa H o F;

o una sal, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de estos.

Una realización son compuestos de fórmula I,

20 en donde

A es un heteroarilo seleccionado del grupo de imidazol, pirazol y triazol, que está sustituido opcionalmente con R3 y R4;

o una sal, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de estos.

Una realización son compuestos de fórmula I,

25 en donde

A es imidazol, que está sustituido opcionalmente con R3 y R4;

o una sal, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de estos.

Una realización son compuestos de fórmula I,

en donde

30 A es pirazol, que está sustituido opcionalmente con R3 y R4;

o una sal, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de estos.

Una realización son compuestos de fórmula I,

en donde

A es triazol, que está sustituido opcionalmente con R3 y R4;

5 o una sal, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de estos.

Una realización son compuestos de fórmula I,

en donde

A representa un heteroarilo seleccionado de

1-imidazolilo, 2-imidazolilo, 4-imidazolilo, 5-imidazolilo,

10 1-pirazolilo, 3-pirazolilo, 4-pirazolilo, 5-pirazolilo,

1,2,3-triazol-1-ilo, 1,2,3-triazol-4-ilo, 1,2,3-triazol-5-ilo,

1,2,4-triazol-1-ilo, 1,2,4-triazol-3-ilo y 1,2,4-triazol-5-ilo;

que está sustituido opcionalmente con R3 y R4;

o una sal, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de estos.

15 Una realización son compuestos de fórmula I,

en donde

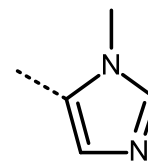
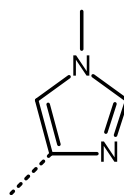
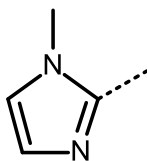
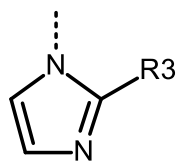
A representa un heteroarilo seleccionado de

20

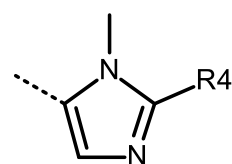
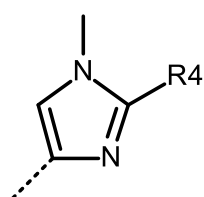
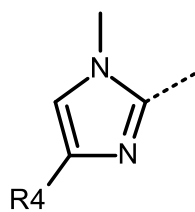
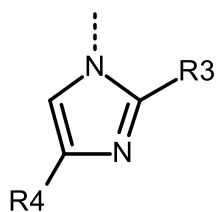
25

30

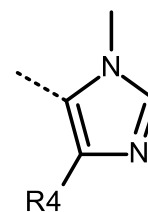
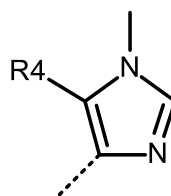
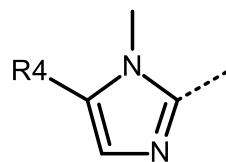
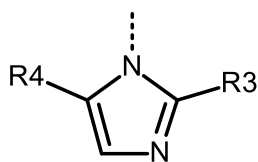
5



10



15

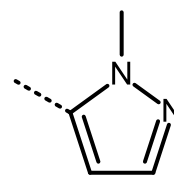
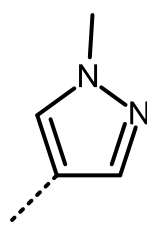
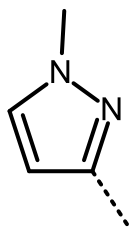
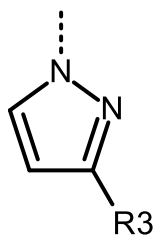


20

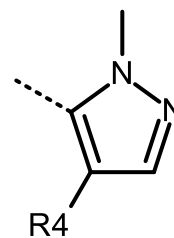
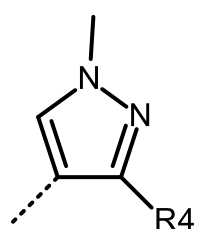
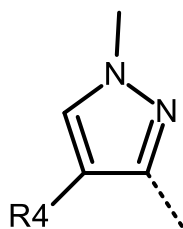
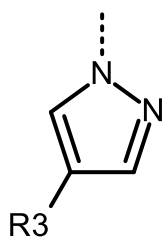
25

30

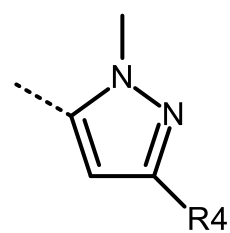
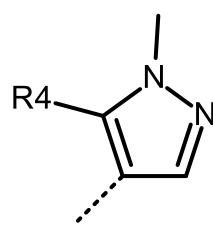
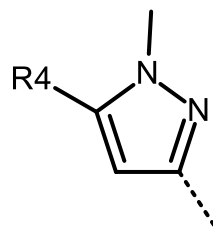
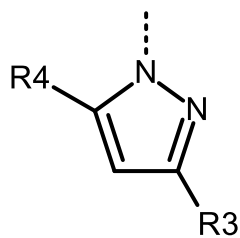
5



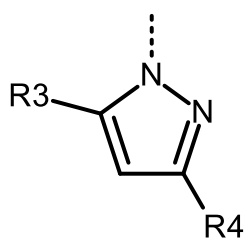
10



15



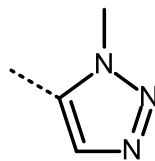
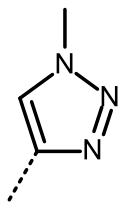
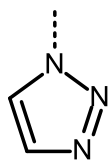
20



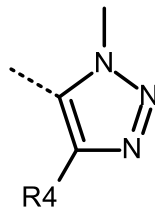
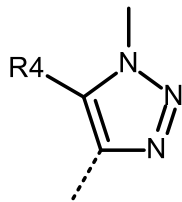
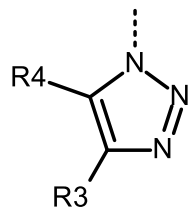
25

30

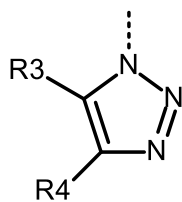
5



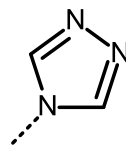
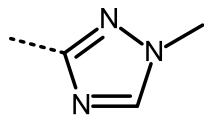
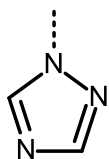
10



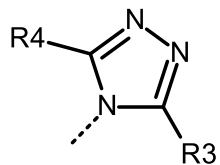
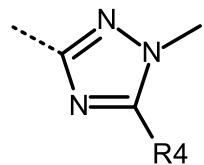
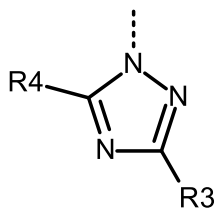
15



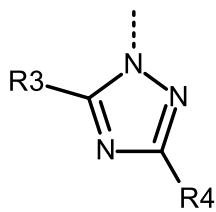
20



25



30



en donde la línea discontinua indica el enlace al anillo de pirimidina de la fórmula I;

R3 representa H o CH₃; y

R4 representa H, CH₃ o ciclopropilo;

5 o una sal, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de estos.

Una realización son compuestos de fórmula I,

en donde

A representa un heteroarilo seleccionado de

1-imidazolilo,

10 1-pirazolilo, 3-pirazolilo, 4-pirazolilo,

1,2,3-triazol-4-ilo y

1,2,4-triazol-1-ilo;

que está sustituido opcionalmente con R3 y R4;

o una sal, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de estos.

15 Una realización son compuestos de fórmula I,

en donde

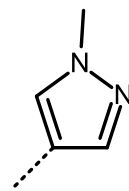
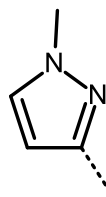
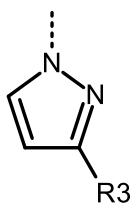
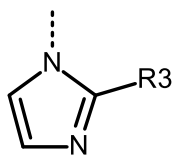
A representa un heteroarilo seleccionado de

20

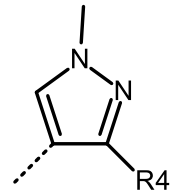
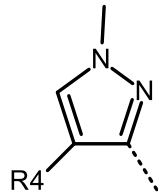
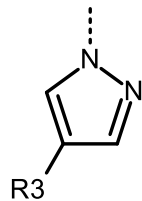
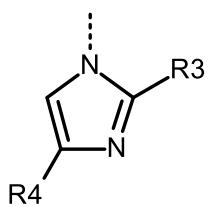
25

30

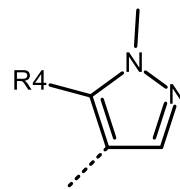
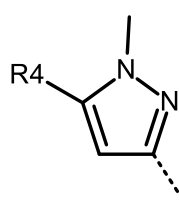
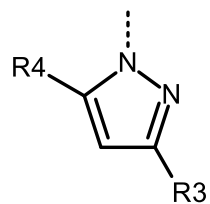
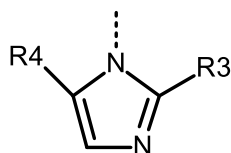
5



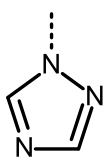
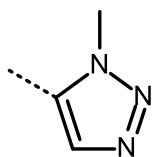
10



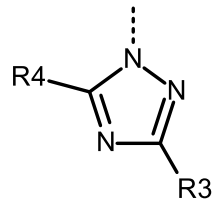
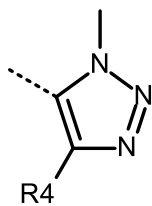
15



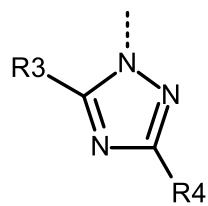
20



25



30



en donde la línea discontinua indica el enlace al anillo de pirimidina de la fórmula I;

R3 representa H o CH₃; y

R4 representa H, CH₃ o ciclopropilo;

5 o una sal, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de estos.

Una realización son compuestos de fórmula I,

en donde

A representa un heteroarilo seleccionado de

1-imidazolilo y 3-pirazolilo,

10 que está sustituido opcionalmente con R3 y R4;

o una sal, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de estos.

Una realización son compuestos de fórmula I,

en donde uno de R3 o R4 no representa H;

o una sal, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de estos.

15 Una realización son compuestos de fórmula I, en donde

R3 representa H; y

R4 representa CH₃ o ciclopropilo;

o una sal, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de estos.

Una realización son compuestos de fórmula I,

20 en donde

R3 representa CH₃ y

R4 representa H;

o una sal, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de estos.

Una realización son compuestos de fórmula I,

25 en donde

R3 representa CH₃; y

R4 representa CH₃;

o una sal, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de estos.

Una realización son compuestos de fórmula I,

30 en donde

R3 representa CH₃; y

R4 representa CH₃ o ciclopropilo;

o una sal, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de estos.

Una realización son compuestos de fórmula I,

5 en donde

A representa un heteroarilo seleccionado de

2-metilpirazol-3-ilo,

3-metil-1*H*-pirazol-4-ilo,

4-metilpirazol-1-ilo

10 2,5-dimetilpirazol-3-ilo,

2-metilimidazol-1-ilo,

4-ciclopropil-2-metilimidazol-1-ilo,

3-metil-1,2,4-triazol-1-ilo,

5-metil-1,2,4-triazol-1-ilo y

15 3-metiltriazol-4-ilo;

o una sal, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de estos.

Una realización son compuestos de fórmula I,

en donde

R1 representa CH₃; y

20 R2 representa CN;

o una sal, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de estos.

Una realización son compuestos de fórmula I,

en donde

R1 representa H; y

25 R2 representa CN;

o una sal, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de estos.

Una realización son compuestos de fórmula I,

en donde

R1 representa H; y

30 R2 representa F;

o una sal, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de estos.

Una realización son compuestos de fórmula I,

en donde

R1 representa H; y

5 R2 representa Cl;

o una sal, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de estos.

Una realización son compuestos de fórmula I,

en donde

A representa imidazol o pirazol;

10 R1 representa H;

R2 representa CN;

R3 representa CH₃;

R4 representa H; y

R5 representa H o F;

15 o una sal, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de estos.

Una realización son compuestos de fórmula I,

en donde

A representa un heteroarilo seleccionado de
1-imidazolilo y 3-pirazolilo;

20 R1 representa H;

R2 representa CN;

R3 representa CH₃;

R4 representa H; y

R5 representa H o F;

25 o una sal, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de estos.

Una realización son compuestos de fórmula I,

en donde

R5 representa H;

o una sal, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de estos.

30 Una realización son compuestos de fórmula I,

en donde

R5 representa F;

o una sal, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de estos.

Otra realización son compuestos de fórmula I, seleccionados de

- 5 3-fluoro-5-[(3S)-2-[1-[6-(2-metilimidazol-1-il)]pirimidin-4-il]piperidin-4-carbonil]isoxazolidin-3-il]benzonitrilo;
3-fluoro-2-metil-5-[(3S)-2-[1-[6-(2-metilimidazol-1-il)]pirimidin-4-il]piperidin-4-carbonil]isoxazolidin-3-il]benzonitrilo;
3-fluoro-5-[(3S)-2-[1-[6-(2-metilpirazol-3-il)]pirimidin-4-il]piperidin-4-
- 10 carbonil]isoxazolidin-3-il]benzonitrilo;
[(3S)-3-(3,5-difluorofenil)isoxazolidin-2-il]-[1-[6-(2-metilpirazol-3-il)]pirimidin-4-il]-4-piperidil]metanona;
[(3S)-3-(3-cloro-5-fluorofenil)isoxazolidin-2-il]-[1-[6-(2-metilpirazol-3-il)]pirimidin-4-il]-4-piperidil]metanona;
- 15 3-fluoro-5-[(3S)-2-[1-[6-(3-metil-1*H*-pirazol-4-il)]pirimidin-4-il]piperidin-4-carbonil]isoxazolidin-3-il]benzonitrilo;
3-[(3S)-2-[1-[6-(4-ciclopropil-2-metilimidazol-1-il)]pirimidin-4-il]piperidin-4-carbonil]isoxazolidin-3-il]-5-fluorobenzonitrilo;
5-[(3S)-2-[1-[6-(4-ciclopropil-2-metilimidazol-1-il)]pirimidin-4-il]piperidin-4-
- 20 carbonil]isoxazolidin-3-il]-3-fluoro-2-metilbenzonitrilo;
3-[(3S)-2-[1-[6-(2,5-dimetilpirazol-3-il)]pirimidin-4-il]piperidin-4-carbonil]isoxazolidin-3-il]-5-fluorobenzonitrilo;
3-fluoro-5-[(3S)-2-[1-[6-(3-metil-1,2,4-triazol-1-il)]pirimidin-4-il]piperidin-4-
- 25 carbonil]isoxazolidin-3-il]benzonitrilo;
3-fluoro-5-[(3S)-2-[1-[6-(5-metil-1,2,4-triazol-1-il)]pirimidin-4-il]piperidin-4-carbonil]isoxazolidin-3-il]benzonitrilo;
3-fluoro-5-[(3S)-2-[1-[6-(3-metil-1,2,4-triazol-4-il)]pirimidin-4-il]piperidin-4-
- 30 carbonil]isoxazolidin-3-il]benzonitrilo;
3-fluoro-5-[(3S)-2-[1-[5-fluoro-6-(2-metilimidazol-1-il)]pirimidin-4-il]piperidin-4-

3-fluoro-5-[(3S)-2-[1-[5-fluoro-6-(4-metilpirazol-1-il)]pirimidin-4-il]piperidin-4-carbonil]isoxazolidin-3-il]-2-metilbenzonitrilo; y

[(3S)-3-(3,5-difluorofenil)isoxazolidin-2-il]-[1-[5-fluoro-6-(2-metilpirazol-3-il)]pirimidin-4-il]-4-piperidil]metanona;

5 o una sal, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de estos.

Otra realización son compuestos de fórmula I, seleccionados de

3-fluoro-5-[(3S)-2-[1-[6-(2-metilimidazol-1-il)]pirimidin-4-il]piperidin-4-carbonil]isoxazolidin-3-il]benzonitrilo;

10 3-fluoro-5-[(3S)-2-[1-[6-(2-metilpirazol-3-il)]pirimidin-4-il]piperidin-4-carbonil]isoxazolidin-3-il]benzonitrilo; y

3-fluoro-5-[(3S)-2-[1-[5-fluoro-6-(2-metilimidazol-1-il)]pirimidin-4-il]piperidin-4-carbonil]isoxazolidin-3-il]benzonitrilo;

o una sal, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de estos.

Otra realización es el compuesto

15 3-fluoro-5-[(3S)-2-[1-[6-(2-metilimidazol-1-il)]pirimidin-4-il]piperidin-4-carbonil]isoxazolidin-3-il]benzonitrilo; o una o una sal, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de este.

Otra realización es el compuesto

20 3-fluoro-5-[(3S)-2-[1-[6-(2-metilpirazol-3-il)]pirimidin-4-il]piperidin-4-carbonil]isoxazolidin-3-il]benzonitrilo; o una o una sal, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de este.

Otra realización es el compuesto

25 3-fluoro-5-[(3S)-2-[1-[5-fluoro-6-(2-metilimidazol-1-il)]pirimidin-4-il]piperidin-4-carbonil]isoxazolidin-3-il]benzonitrilo;

o una sal, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de este.

Síntesis de los compuestos

Los compuestos de fórmula I se pueden preparar utilizando los métodos que se divulgan en el presente documento y modificaciones rutinarias de estos, que serán evidentes teniendo en cuenta la divulgación del presente documento y
30 métodos muy conocidos en la técnica.

Los esquemas 1 a 7 muestran los principales pasos de reacción para obtener los compuestos de fórmula I de ejemplo.

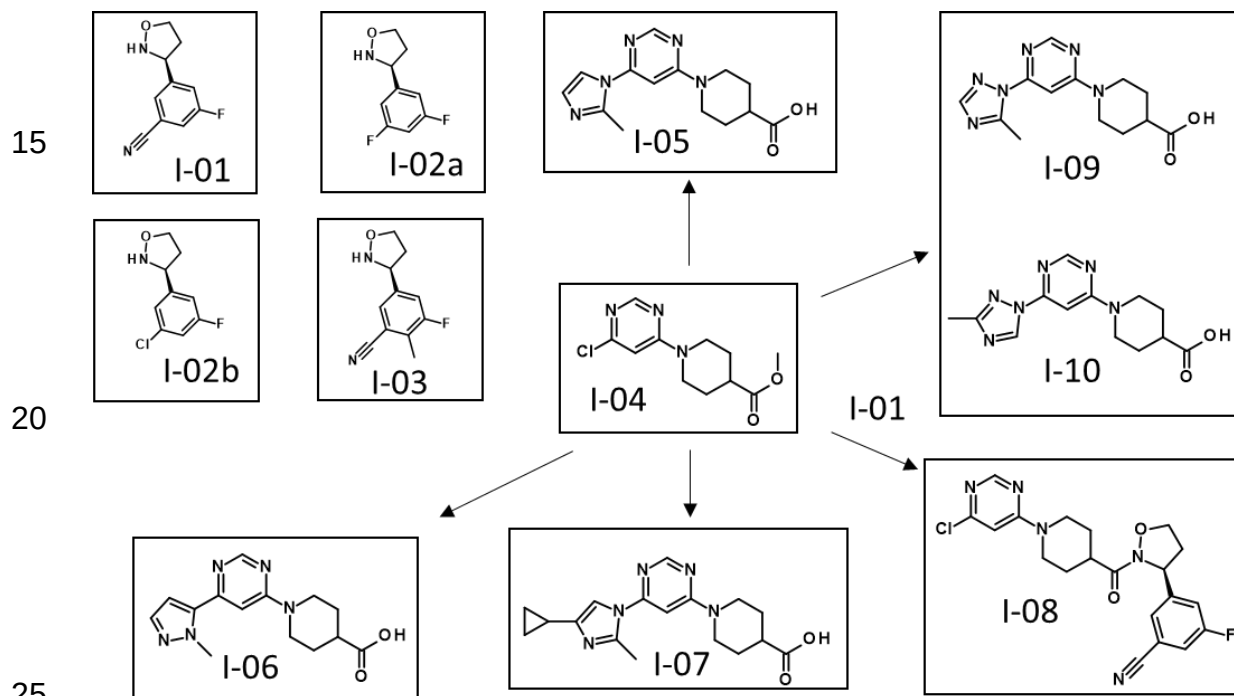
El esquema 1 se refiere a intermedios cuya síntesis se describe en detalle en la sección de los ejemplos.

5 Los intermedios I-01, I-02a, I-02b y I-03 son los derivados de isoxalidina con el fenilo sustituido con R1/R2.

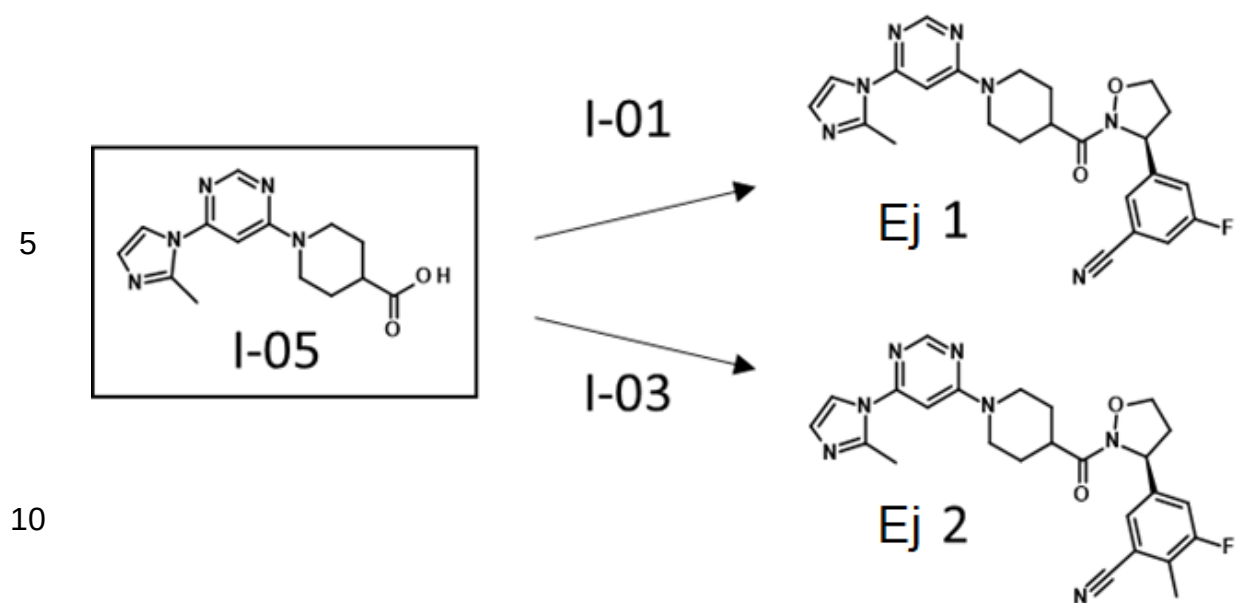
Al intermedio central I-04 se une el componente estructural de heteroarilo A sustituido con R3/R4, lo cual da como resultado los intermedios I-05, I-06, I-07, I-08, I-09 y I-10.

10 Los esquemas 2 a 7 muestran los principales pasos de reacción para obtener los compuestos de ejemplo.

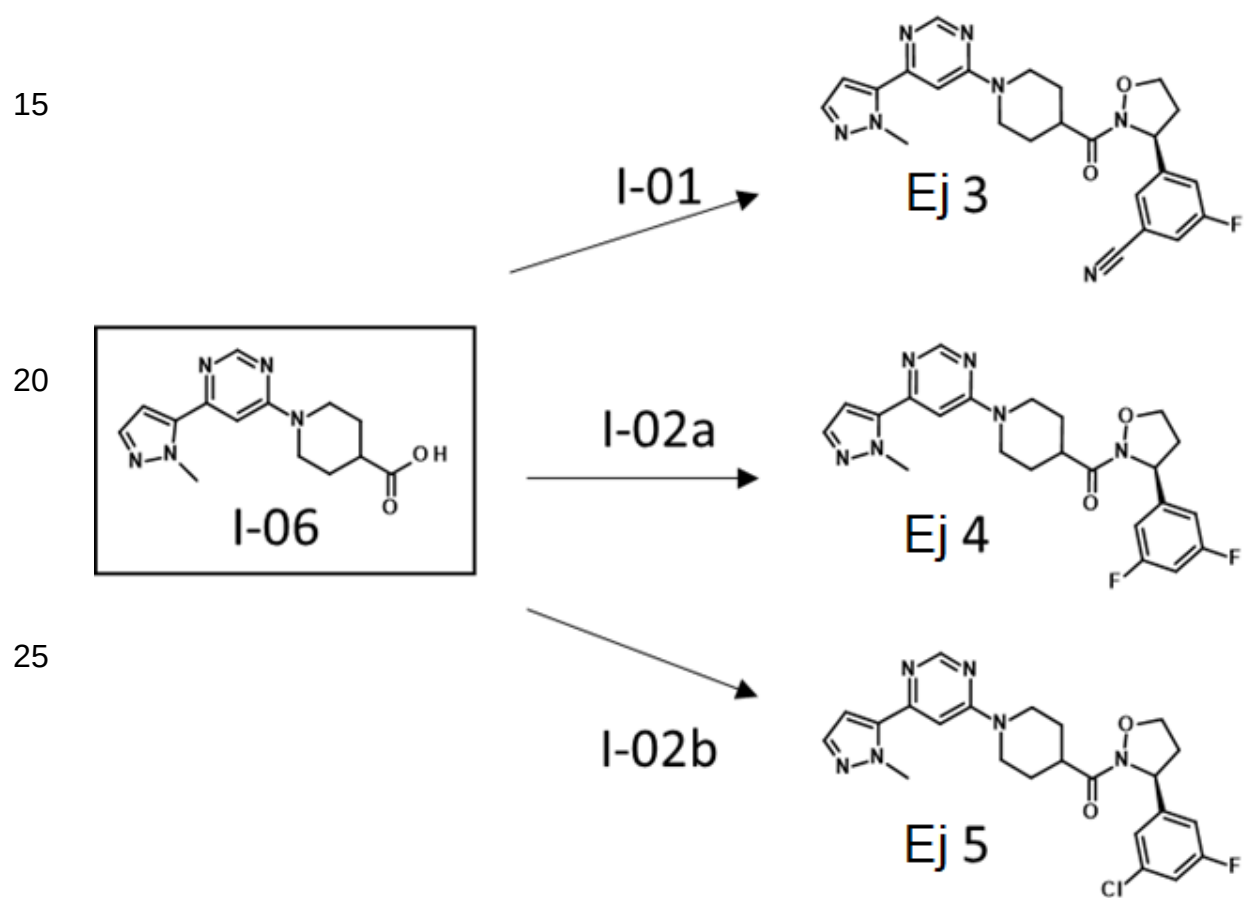
Esquema 1



Esquema 2 (ejemplos del Intermedio-05)

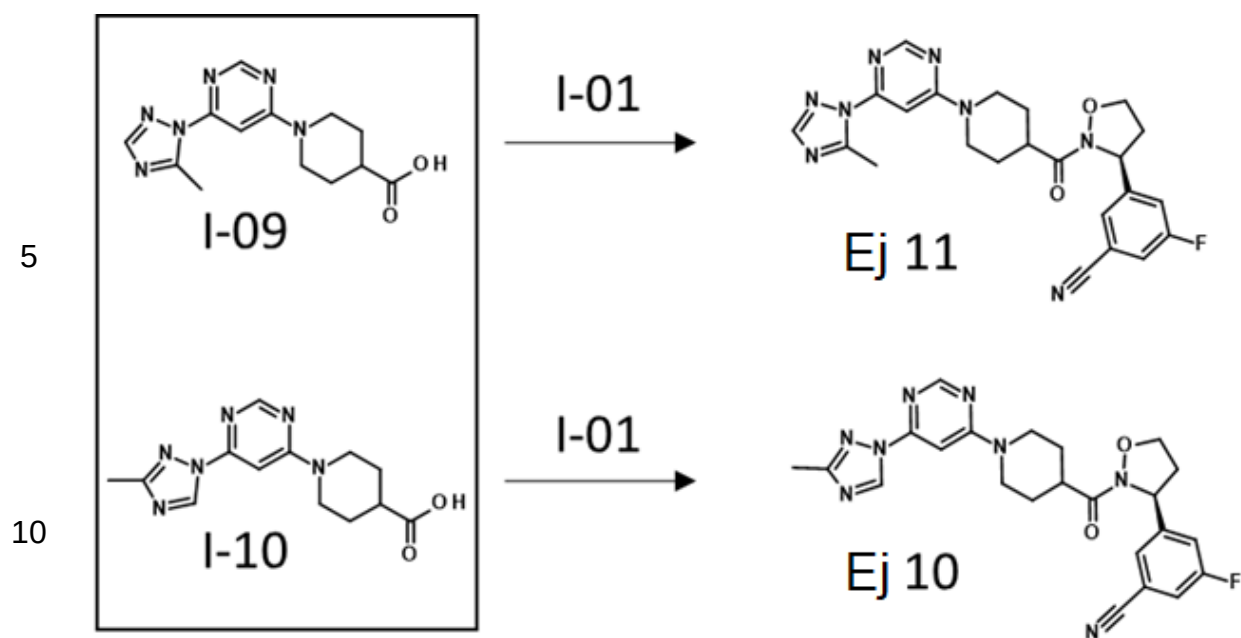


Esquema 3 (ejemplos del Intermedio-06)

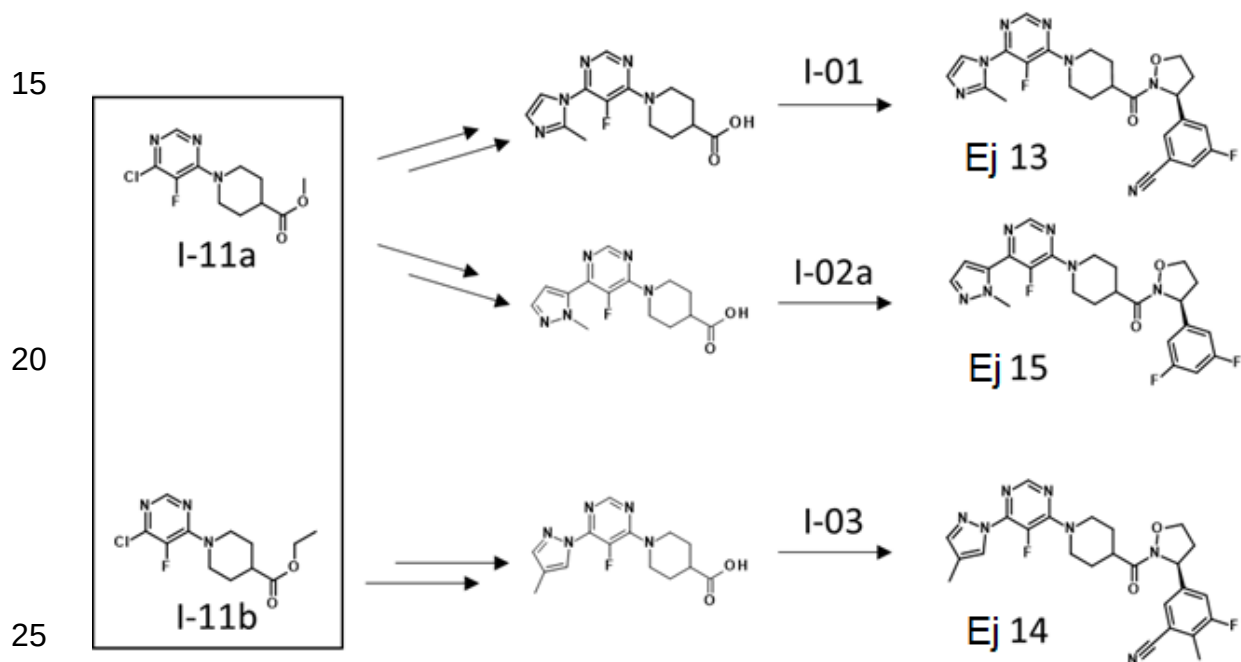


Esquema 4 (ejemplos del Intermedio-07)





Esquema 7 (ejemplos del Intermedio-11a e Intermedio-11b)



La síntesis de los compuestos típicos que se describen en el presente documento se puede conseguir como se describe en los siguientes ejemplos. Si están disponibles, los reactivos se pueden adquirir de proveedores comerciales, p. ej., Sigma Aldrich u otros proveedores de productos químicos. Se apreciará que,

cuando se proporcionen condiciones de proceso (es decir, temperaturas, tiempos, relaciones molares de los reactivos, disolventes, presiones, etc., de reacción) típicas o preferidas, también se pueden utilizar otras condiciones de proceso a menos que se indique lo contrario. Las condiciones de reacción óptimas pueden
5 variar en función del disolvente o los reactivos particulares utilizados, pero un experto en la técnica puede determinar tales condiciones mediante un procedimiento rutinario de optimización.

Adicionalmente, como será evidente para los expertos en la técnica, puede que se necesiten grupos protectores convencionales para evitar que determinados
10 grupos funcionales experimenten reacciones no deseadas. Los grupos protectores adecuados para diferentes grupos funcionales, así como las condiciones adecuadas para proteger y desproteger grupos funcionales particulares son muy conocidos en la técnica. Por ejemplo, se describen numerosos grupos protectores en *Greene's protective groups in organic synthesis*, de Wuts, P. G. M., Greene, T.
15 W. y Greene, T. W. (2006), Hoboken, N.J., Wiley-Interscience, y las referencias que en él se citan.

Además, los compuestos de esta divulgación pueden contener uno o más centros quirales. Por consiguiente, si se desea, tales compuestos se pueden preparar o aislar como estereoisómeros puros, es decir, como enantiómeros o
20 diastereómeros individuales, o como mezclas enriquecidas en un estereoisómero. Todos estos estereoisómeros (y mezclas enriquecidas) se incluyen dentro del alcance de esta divulgación, a menos que se indique lo contrario. Los estereoisómeros puros (o mezclas enriquecidas) se pueden preparar utilizando, por ejemplo, materiales de partida ópticamente activos o reactivos
25 estereoselectivos muy conocidos en la técnica. Como alternativa, las mezclas racémicas de tales compuestos se pueden separar utilizando, por ejemplo, cromatografía de columna quiral, agentes de resolución quiral y similares.

Los materiales de partida para las siguientes reacciones son, por lo general, compuestos conocidos o se pueden preparar mediante procedimientos conocidos
30 o modificaciones obvias de estos. Por ejemplo, muchos de los materiales de

partida se pueden adquirir de proveedores comerciales tales como Aldrich Chemical Co. (Milwaukee, Wisconsin, EE. UU.), Bachem (Torrance, California, EE. UU.), Emka- Chemce o Sigma (St. Louis, Missouri, EE. UU.). Otros se pueden preparar mediante procedimientos, o modificaciones obvias de estos, que se describen en textos de referencia estándar tales como *Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis*, Tomos 1-15 (John Wiley, and Sons, 1991), *Rodd's Chemistry of Carbon Compounds*, Tomos 1-5 y Suplementos (Elsevier Science Publishers, 1989), *Organic Reactions*, Tomos 1-40 (John Wiley, and Sons, 1991), *March's Advanced Organic Chemistry* (John Wiley, and Sons, 5.^a Edición, 2001) y *Larock's Comprehensive Organic Transformations* (VCH Publishers Inc., 1989). Los términos “disolvente”, “disolvente orgánico inerte” o “disolvente inerte” se refieren a un disolvente inerte en las condiciones de reacción que se están describiendo junto con él (que incluye, por ejemplo, benceno, tolueno, acetonitrilo, tetrahidrofurano (“THF”), dimetilformamida (“DMF”), cloroformo, cloruro de metileno (o diclorometano, “DCM”), éter dietílico, metanol, piridina y similares). A menos que se especifique lo contrario, los disolventes utilizados en las reacciones de la presente divulgación son disolventes orgánicos inertes y las reacciones se llevan a cabo en una atmósfera de gas inerte, preferentemente argón.

20 **Composiciones farmacéuticas**

Los compuestos de la divulgación se administran habitualmente en forma de composiciones farmacéuticas. Por tanto, en el presente documento también se proporcionan composiciones farmacéuticas que contienen uno o más de los compuestos de la divulgación, o una sal, tautómero, estereoisómero, mezcla de estereoisómeros farmacéuticamente aceptable de estos, y uno o más portadores, adyuvantes y excipientes farmacéuticamente aceptables.

Los portadores farmacéuticamente aceptables adecuados pueden incluir, por ejemplo, rellenos y diluyentes sólidos inertes, diluyentes, que incluyen solución acuosa estéril y diferentes disolventes orgánicos, potenciadores de la permeación, solubilizantes y adyuvantes. Tales composiciones se preparan de un modo muy

conocido en las técnicas farmacéuticas.

Las composiciones farmacéuticas de la presente divulgación se pueden formular especialmente para la administración en forma sólida o líquida, e incluyen las adaptadas para lo siguiente: la administración oral, por ejemplo, formulaciones
5 de aplicación directa en la boca (soluciones o suspensiones acuosas o no acuosas), comprimidos, p. ej., los específicos para la absorción yugal, sublingual y sistémica, inyecciones intravenosas en embolada, polvos, gránulos, pastas para la aplicación en la lengua; la administración parenteral, por ejemplo, mediante inyección subcutánea, intramuscular, intravenosa o epidural como, por ejemplo,
10 una solución o suspensión estéril, o composición farmacéutica de liberación prolongada; la aplicación tópica, por ejemplo, como una crema, pomada, o un espray o parche de liberación controlada aplicado a la piel; por vía intravaginal o intrarrectal, por ejemplo, como un óvulo vaginal, crema o espuma; por vía sublingual; por vía ocular; por vía transdérmica; o por vía nasal, pulmonar y a otras
15 superficies mucosas.

La expresión “farmacéuticamente aceptable” se emplea en el presente documento para referirse a aquellos compuestos, materiales, composiciones y/o formas farmacéuticas que son, en el ejercicio de un criterio médico razonable, adecuados para el uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales
20 sin provocar excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica u otro problema o complicación, en consonancia con una relación de beneficio/riesgo razonable.

La expresión “portador farmacéuticamente aceptable”, como se utiliza en el presente documento, significa un material, composición o portador farmacéuticamente aceptable, tal como un relleno líquido o sólido, diluyente,
25 excipiente o material encapsulador de disolventes, que participa en el traslado o transporte del compuesto en cuestión de un órgano o parte del cuerpo a otro órgano o parte del cuerpo. Cada portador debe ser “aceptable” en el sentido de que sea compatible con los otros ingredientes de la composición farmacéutica y no sea perjudicial para el sujeto. Algunos ejemplos de materiales que pueden servir
30 como portadores farmacéuticamente aceptables incluyen: azúcares, tales como

lactosa, glucosa y sacarosa; almidones, tales como almidón de maíz y almidón de papa; celulosa y sus derivados, tales como carboximetilcelulosa sódica, etilcelulosa y acetato de celulosa; tensioactivos, tales como polisorbato 80 (es decir, Tween 80); tragacanto en polvo; malta; gelatina; talco; excipientes, tales como manteca de cacao y ceras para supositorios; aceites, tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de cártamo, aceite de ajonjolí, aceite de oliva, aceite de maíz y soya; glicoles, tales como propilenglicol; polioles, tales como glicerina, sorbitol, manitol y polietilenglicol; ésteres, tales como oleato de etilo y laurato de etilo; agar; agentes tamponantes, tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; ácido algínico; agua apirógena; solución salina isotónica; solución de Ringer; alcohol etílico; soluciones de pH tamponado; poliésteres, policarbonatos y/o polianhídridos; y otras sustancias compatibles atóxicas empleadas en composiciones farmacéuticas. Los ejemplos de estas composiciones farmacéuticas incluyen, pero no se limitan a, DMSO, DMSO 10 mM, hidroxipropil-beta-ciclodextrina al 8 % en PBS, propilenglicol, etc. Por ejemplo, en una realización determinada, los compuestos de la divulgación se pueden utilizar como una solución 4 mM en hidroxipropil-beta-ciclodextrina al 8 % en PBS para la administración parenteral. En otra realización determinada, los compuestos de la divulgación se pueden utilizar como una suspensión en CMC acuosa al 0.5 % que contiene un 0.1 % de TWEEN 80.

Como se expone en el presente documento, determinadas realizaciones de los presentes compuestos pueden contener un grupo funcional básico, tal como amino o metilamino (NCH_3) y son, por tanto, capaces de formar sales farmacéuticamente aceptables con ácidos farmacéuticamente aceptables. El término “sales farmacéuticamente aceptables”, a este respecto, se refiere a las sales de adición de ácidos orgánicos e inorgánicos, relativamente atóxicas de los compuestos de la presente divulgación. Estas sales se pueden preparar *in situ* en el portador de administración o el proceso de fabricación de la forma farmacéutica, o haciendo reaccionar por separado un compuesto purificado de la divulgación en su forma de base libre con un ácido orgánico o inorgánico adecuado y aislando la

sal formada de este modo durante una purificación posterior.

También puede haber presentes en las composiciones agentes humectantes, emulsionantes y lubricantes, tales como laurilsulfato de sodio y estearato de magnesio, así como agentes colorantes, agentes de liberación, 5 agentes de recubrimiento, edulcorantes, agentes saborizantes y perfumantes, conservantes y antioxidantes. Los ejemplos de antioxidantes farmacéuticamente aceptables incluyen: antioxidantes hidrosolubles, tales como ácido ascórbico, clorhidrato de cisteína, bisulfato de sodio, metabisulfito de sodio, sulfito de sodio y similares; antioxidantes solubles en aceite, tales como palmitato de ascorbilo, 10 hidroxianisol butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT), lecitina, galato de propilo, alfa-tocoferol y similares; y agentes quelantes de metales, tales como ácido cítrico, ácido etilendiaminatetraacético (EDTA), sorbitol, ácido tartárico, ácido fosfórico y similares.

Las composiciones farmacéuticas de la presente divulgación incluyen las 15 adecuadas para la administración oral, nasal, tópica (que incluye yugal y sublingual), rectal, vaginal y/o parenteral. Las composiciones farmacéuticas pueden presentarse convenientemente en forma farmacéutica unitaria y pueden prepararse mediante cualesquiera métodos muy conocidos en la técnica de la farmacia. La cantidad del compuesto activo que se puede combinar con un 20 material portador para producir una forma farmacéutica única variará dependiendo del receptor que se esté tratando, el modo de administración particular. La cantidad de compuesto activo que se puede combinar con un material portador para producir una forma farmacéutica única será, por lo general, la cantidad del compuesto que produce un efecto terapéutico. En general, esta cantidad variará 25 de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 99 % del compuesto activo, preferentemente de aproximadamente el 5 % a aproximadamente el 70 %, con la mayor preferencia de aproximadamente el 10 % a aproximadamente el 30 %. En determinadas realizaciones, una composición farmacéutica de la presente divulgación comprende una o más de ciclodextrinas, liposomas, agentes 30 formadores de micelas, p. ej., ácidos biliares y portadores poliméricos, p. ej.,

poliésteres y polianhídridos; y un compuesto de la presente divulgación. En determinadas realizaciones, una composición farmacéutica mencionada anteriormente convierte un compuesto de la presente divulgación en biodisponible por vía oral.

- 5 Los métodos de preparación de estas composiciones farmacéuticas incluyen el paso de asociar un compuesto de la presente divulgación con el portador y, opcionalmente, uno o más ingredientes secundarios. En general, las composiciones farmacéuticas se preparan asociando de forma uniforme e íntima un compuesto de la presente divulgación con portadores líquidos o portadores
- 10 sólidos finamente divididos, o ambos y, después, si procede, moldeando el producto. Las composiciones farmacéuticas de la divulgación adecuadas para la administración oral pueden estar en forma de cápsulas, sobres, píldoras, comprimidos, pastillas para chupar (utilizando una base con sabor, habitualmente sacarosa y goma arábica o tragacanto), polvos, gránulos, o como una solución o
- 15 una suspensión en un líquido acuoso o no acuoso, o como una emulsión de aceite en agua o agua en aceite, o como un elixir o jarabe, o como pastillas (utilizando una base inerte, tal como gelatina y glicerina o sacarosa y goma arábica), y/o como enjuagues bucales y similares, conteniendo cada uno una cantidad predeterminada de un compuesto de la presente divulgación como un compuesto
- 20 activo. Un compuesto de la presente divulgación también se puede administrar como una inyección intravenosa en embolada, electuario o pasta.

- En formas farmacéuticas sólidas de la divulgación para la administración oral (cápsulas, comprimidos, píldoras, grageas, polvos, gránulos y similares), el compuesto activo se mezcla con uno o más portadores farmacéuticamente
- 25 aceptables, tales como citrato de sodio o fosfato dicálcico y/o cualquiera de los siguientes: rellenos o expansores, tales como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y/o ácido silícico; aglutinantes, tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa y/o goma arábica; humectantes, tales como glicerol; agentes disgregantes, tales como agar,
- 30 carbonato de calcio, almidón de papa o tapioca, ácido algínico, determinados

silicatos y carbonato de sodio; agentes retardantes de la disolución, tales como parafina; aceleradores de la absorción, tales como compuestos de amonio cuaternario; agentes humectantes, tales como, por ejemplo, alcohol cetílico, monoestearato de glicerol y tensioactivos no iónicos; absorbentes, tales como caolín y arcilla bentonítica; lubricantes, tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, laurilsulfato de sodio y mezclas de estos; y agentes colorantes. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, las composiciones farmacéuticas también pueden comprender agentes tamponantes. Las composiciones sólidas de un tipo similar también pueden emplearse como rellenos en cápsulas con cubierta de gelatina dura y blanda utilizando excipientes tales como lactosa o azúcares de la leche, así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares.

Un comprimido puede prepararse mediante compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes secundarios. Los comprimidos preparados por compresión se pueden preparar utilizando un aglutinante (por ejemplo, gelatina o hidroxipropilmetilcelulosa), lubricante, diluyente inerte, conservante, disgregante (por ejemplo, glicolato de almidón sódico o carboximetilcelulosa sódica reticulada), agente tensioactivo o dispersante. Los comprimidos moldeados se pueden preparar en una máquina adecuada en la que se humedece una mezcla del compuesto en polvo con un diluyente líquido inerte.

Los comprimidos y otras formas farmacéuticas sólidas de las composiciones farmacéuticas de la presente divulgación, tales como grageas, cápsulas, píldoras y gránulos, se pueden ranurar o preparar opcionalmente con recubrimientos y cubiertas, tales como recubrimientos entéricos y otros recubrimientos muy conocidos en las técnicas de formulación farmacéutica. También se pueden formular para proporcionar la liberación lenta o controlada del compuesto activo que contienen utilizando, por ejemplo, hidroxipropilmetilcelulosa en diferentes proporciones para proporcionar el perfil de liberación deseado, otras matrices poliméricas, liposomas y/o microesferas. Se pueden formular para la liberación rápida, p. ej., liofilizadas. Se pueden esterilizar mediante, por ejemplo,

filtración a través de un filtro de retención bacteriana o incorporando agentes esterilizantes en forma de composiciones sólidas estériles que pueden disolverse en agua estéril o algún otro medio inyectable estéril justo antes de su uso. Estas composiciones también pueden contener opcionalmente agentes opacificantes y pueden tener una composición tal que liberen el compuesto o compuestos activos solo o preferentemente, en una parte determinada del tubo digestivo, opcionalmente, de una manera retardada. Los ejemplos de composiciones de inclusión que se pueden utilizar incluyen sustancias poliméricas y ceras. El compuesto activo también puede estar en forma microencapsulada, si procede, con uno o más de los excipientes descritos anteriormente.

Las formas farmacéuticas líquidas para la administración oral de los compuestos de la divulgación incluyen emulsiones, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Además del compuesto activo, las formas farmacéuticas líquidas pueden contener diluyentes inertes de uso común en la técnica, tales como, por ejemplo, agua u otros disolventes, agentes solubilizantes y emulsionantes, tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, aceites (en particular, aceites de semilla de algodón, maní, maíz, germen, oliva, ricino y ajonjolí), glicerol, alcohol tetrahidrofurílico, polietilenglicoles y ésteres de ácidos grasos de sorbitán, y mezclas de estos.

A parte de diluyentes inertes, las composiciones orales también pueden incluir adyuvantes tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y de suspensión, agentes edulcorantes, saborizantes, colorantes, perfumantes y conservantes.

Las suspensiones, además de los compuestos activos, pueden contener agentes de suspensión como, por ejemplo, alcoholes isoestearílicos etoxilados, ésteres de sorbitol y sorbitán polioxietilenados, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar y tragacanto, y mezclas de estos.

Las composiciones farmacéuticas de la divulgación para la administración

rectal o vaginal se pueden presentar como un supositorio u óvulo vaginal que se puede preparar mezclando uno o más compuestos de la divulgación con uno o más portadores o excipientes no irritantes adecuados que comprenden, por ejemplo, manteca de cacao, polietilenglicol, una cera para supositorios o un salicilato, y que es sólido a temperatura ambiente, pero líquido a la temperatura corporal y, por lo tanto, se derretirá en el recto o la cavidad vaginal y liberará el compuesto activo.

Las composiciones farmacéuticas de la presente divulgación que son adecuadas para la administración vaginal también incluyen óvulos vaginales, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o espráis que contienen portadores tales como los que se sabe en la técnica que son apropiados.

Las formas farmacéuticas para la administración tópica o transdérmica de un compuesto de esta divulgación incluyen polvos, espráis, pomadas, pastas, cremas, lociones, geles, soluciones, parches e inhalatorios. El compuesto activo se puede mezclar en condiciones estériles con un portador farmacéuticamente aceptables y con cualesquiera conservantes, tampones o propulsores que se puedan necesitar.

Las pomadas, pastas, cremas y geles pueden contener, además de un compuesto activo de esta divulgación, excipientes, tales como grasas de origen animal o vegetal, aceites, ceras, parafinas, almidón, tragacanto, derivados de celulosa, polietilenglicoles, siliconas, bentonitas, ácido silícico, talco y óxido de cinc, o mezclas de estos.

Los polvos y espráis pueden contener, además de un compuesto de esta divulgación, excipientes tales como lactosa, talco, ácido silícico, hidróxido de aluminio, silicatos de calcio y poliamida en polvo, o mezclas de estas sustancias. Los espráis pueden contener adicionalmente propulsores habituales, tales como clorofluorohidrocarburos e hidrocarburos no sustituidos volátiles, tales como butano y propano.

Los parches transdérmicos tienen la ventaja añadida de proporcionar el suministro controlado de un compuesto de la presente divulgación al cuerpo. Se

pueden preparar tales formas farmacéuticas disolviendo o dispersando el compuesto en el medio apropiado. También se pueden utilizar potenciadores de la absorción para aumentar el flujo del compuesto a través de la piel. Se puede controlar la velocidad de tal flujo ya sea proporcionando una membrana que
5 controle la velocidad o dispersando el compuesto en una matriz polimérica o gel.

También se contempla que están dentro del alcance de esta divulgación las composiciones farmacéuticas oftálmicas, pomadas oftálmicas, polvos, soluciones y similares. Las composiciones farmacéuticas de esta divulgación adecuadas para la administración parenteral comprenden uno o más compuestos de la divulgación
10 en combinación con una o más soluciones, dispersiones, suspensiones o emulsiones acuosas o no acuosas isotónicas estériles farmacéuticamente aceptables, o polvos estériles que pueden reconstituirse en forma de soluciones o dispersiones inyectables estériles justo antes de su uso, que pueden contener
15 azúcares, alcoholes, antioxidantes, tampones, bacteriostáticos, solutos que convierten la composición farmacéutica en isotónica con la sangre del receptor previsto, o agentes de suspensión o espesantes.

Los ejemplos de portadores acuosos y no acuosos adecuados que pueden emplearse en las composiciones farmacéuticas de la divulgación incluyen agua, etanol, polioles (tales como glicerol, propilenglicol, polietilenglicol y similares) y
20 mezclas adecuadas de estos, aceites vegetales, tales como aceite de oliva y ésteres orgánicos inyectables, tales como oleato de etilo. Puede mantenerse la fluidez apropiada, por ejemplo, mediante el uso de materiales de recubrimiento tales como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de las dispersiones y mediante el uso de tensioactivos.

Estas composiciones también pueden contener adyuvantes tales como conservantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes y agentes dispersantes. La prevención de la acción de microorganismos sobre los compuestos en cuestión puede garantizarse mediante la inclusión de diversos
25 agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabeno, clorobutanol, ácido fenilsórbico y similares. También puede ser deseable incluir agentes isotónicos,
30

tales como azúcares, cloruro de sodio y similares, en las composiciones. Además, se puede lograr una absorción prolongada de la forma farmacéutica inyectable mediante la inclusión de agentes que retrasan la absorción tales como monoestearato de aluminio y gelatina.

- 5 En algunos casos, a fin de prolongar el efecto de un fármaco, es deseable ralentizar la absorción del fármaco desde la inyección subcutánea o intramuscular. Esto se puede conseguir mediante el uso de una suspensión líquida de un material cristalino o amorfo con una hidrosolubilidad baja. La velocidad de absorción del fármaco depende entonces de su velocidad de disolución, que, a su vez, puede depender del tamaño de los cristales y la forma cristalina. Como alternativa, la absorción retardada de una forma farmacéutica administrada por vía parenteral se consigue disolviendo o suspendiendo el fármaco en un portador oleoso.

- 15 Las formas inyectables de liberación prolongada se preparan formando matrices microencapsuladas de los compuestos en cuestión en polímeros biodegradables tales como poliláctido-poliglicólido. En función de la relación de fármaco respecto a polímero y la naturaleza del polímero particular empleado, se puede controlar la velocidad de liberación del fármaco. Los ejemplos de otros polímeros biodegradables incluyen poli(ortoésteres) y poli(anhídridos). También se preparan composiciones farmacéuticas inyectables de liberación prolongada atrapando el fármaco en liposomas o microemulsiones, que son compatibles con el tejido corporal.

Usos terapéuticos

- 25 En otras realizaciones, en el presente documento se proporciona un método de tratamiento de una enfermedad o trastorno mediado por la proteína··cinasa 1 que interacciona con receptores. El método incluye administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto o composición farmacéutica como se describe en el presente documento a un sujeto que lo necesita. En algunas realizaciones, la enfermedad o trastorno mediado por la proteína··cinasa 1 que interacciona con receptores es traumatismo, isquemia, accidente cerebrovascular,
- 30

infarto de miocardio, infección, enfermedad de Gaucher, enfermedad de Krabbe, sepsis, síndrome inflamatorio de respuesta sistémica (SIRS), enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, esclerosis lateral amiotrófica, enfermedad de Huntington, demencia asociada al VIH, enfermedad retiniana degenerativa, glaucoma, degeneración macular senil, artritis reumatoide, dermatopatías inflamatorias no contagiosas (DInc) tales como psoriasis o dermatitis atópica, artropatía psoriásica o enfermedad intestinal inflamatoria.

El término “traumatismo”, como se utiliza en el presente documento, se refiere a cualquier daño físico al cuerpo causando por violencia, accidente, fractura, etc. El término “isquemia” se refiere a un trastorno cardiovascular caracterizado por un estado de oxígeno bajo normalmente debido a la obstrucción del riego sanguíneo arterial o una circulación sanguínea inadecuada que conduce a hipoxia en el tejido. El término “accidente cerebrovascular” se refiere a trastornos cardiovasculares provocados por un trombo o hemorragia en el cerebro, que se debe la mayoría de las veces a una interrupción de la circulación sanguínea en el cerebro como consecuencia del trombo que bloquea un vaso sanguíneo y, en determinadas realizaciones de la divulgación, el termino accidente cerebrovascular se refiere a accidente cerebrovascular isquémico o accidente cerebrovascular hemorrágico. El término “infarto de miocardio” se refiere a un trastorno cardiovascular caracterizado por necrosis localizada como resultado de la obstrucción del riego sanguíneo.

Los métodos descritos en el presente documento pueden aplicarse a poblaciones de células *in vivo* o *ex vivo*. “*In vivo*” significa dentro de un individuo vivo, como dentro de un animal o ser humano. En este contexto, los métodos descritos en el presente documento se pueden utilizar terapéuticamente en un individuo. “*Ex vivo*” significa fuera de un individuo vivo. Los ejemplos de poblaciones de células *ex vivo* incluyen cultivos de células *in vitro* y muestras biológicas que incluyen muestras de tejidos o líquidos obtenidas a partir de los individuos.

Tales muestras se pueden obtener mediante los métodos muy conocidos en

la técnica. Las muestras de líquidos biológicos a modo de ejemplo incluyen sangre, líquido cefalorraquídeo, orina y saliva. En este contexto, los compuestos y las composiciones que se describen en el presente documento se pueden utilizar con diversos fines, que incluyen fines terapéuticos y experimentales. Por ejemplo,

5 los compuestos y las composiciones que se describen en el presente documento se pueden utilizar *ex vivo* para determinar el programa y/o la pauta de administración de un compuesto de la presente divulgación óptimos para una indicación, tipo de célula, individuo y otros parámetros dados. La información recopilada de tal uso se puede utilizar con fines experimentales o en el ámbito

10 clínico para establecer protocolos para el tratamiento *in vivo*. Otros usos *ex vivo* para los que pueden ser idóneos los compuestos y las composiciones que se describen en el presente documento se describen más adelante o serán evidentes para los expertos en la técnica. Los compuestos seleccionados se pueden

15 caracterizar además para estudiar la dosificación de seguridad o tolerancia en sujetos humanos o no humanos. Tales propiedades se pueden estudiar utilizando métodos que los expertos en la técnica normalmente conocen.

Los experimentos con modelos en animales nulgénicos y Necrostatina 1, un inhibidor de la proteína··cinasa 1 que interacciona con receptores, han demostrado la efectividad de la inhibición de la proteína··cinasa 1 que interacciona

20 con receptores en la protección de tejidos frente a enfermedades intestinales inflamatorias (p. ej., colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn), dermatopatías inflamatorias no contagiosas (DInc) tales como psoriasis o dermatitis atópica, necrosis de los fotorreceptores inducida por desprendimiento de la retina, retinosis pigmentaria, pancreatitis aguda inducida por ceruleína y sepsis/síndrome

25 inflamatorio de respuesta sistémica (SIRS), y el alivio de la lesión cerebral isquémica, daño de la retina por reperusión/isquemia, enfermedad de Huntington, daño renal por reperusión/isquemia, lesión renal inducida por cisplatino, traumatismo craneoencefálico, neoplasias hemáticas y de órganos sólidos, infecciones bacterianas e infecciones víricas (p. ej., tuberculosis y gripe o CoV-

30 SRAG) y tesaurosismosis lisosómicas. Los inhibidores de la proteína··cinasa 1 que

interacciona con receptores de la presente divulgación sugieren, por lo tanto, que tanto la inflamación motivada por la cinasa RIPK1 como la muerte celular son factores clave contribuyentes al síndrome inflamatorio de respuesta sistémica (SIRS). También se justifica que la permeabilidad vascular y la disfunción

5 endotelial contribuyen a SIRS/choque y letalidad. Los inhibidores de la proteína··cinasa 1 que interacciona con receptores de la presente divulgación son, por lo tanto, útiles para tratar enfermedades y afecciones mediadas por la proteína··cinasa 1 que interacciona con receptores que incluyen, pero no se limitan a, enfermedades o trastornos inflamatorios, enfermedades celulares

10 necróticas, enfermedades neurodegenerativas, enfermedades del sistema nervioso central (SNC), enfermedades oculares, infecciones y neoplasias malignas. En determinadas realizaciones, los inhibidores de la proteína··cinasa 1 que interacciona con receptores descritos en el presente documento pueden inhibir la inflamación, proteger tejidos o células frente al daño o la muerte celular

15 no deseada (p. ej., necrosis o apoptosis), mejorar síntomas y mejorar la respuesta inmunitaria o función neuronal en un sujeto que padece cualquiera de las enfermedades o afecciones profesionales. Además, los compuestos pueden ser adecuados para el tratamiento de enfermedades de origen inmunitario, tales como, pero sin limitarse a, enfermedades alérgicas, enfermedades

20 autoinmunitarias, y la prevención del rechazo de trasplante.

En el presente documento se proporcionan compuestos y composiciones para el uso en medicina. En determinadas realizaciones, los compuestos y las composiciones son para el uso en el tratamiento de una enfermedad o trastorno mediado por la proteína··cinasa 1 que interacciona con receptores. También se

25 proporciona un método de tratamiento de una enfermedad o trastorno mediado por la proteína··cinasa 1 que interacciona con receptores que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto o composición farmacéutica que se divulga en el presente documento a un sujeto que lo necesita. En determinadas realizaciones, la enfermedad o trastorno es una enfermedad

30 inflamatoria asociada con SNP de A20.

A continuación se describen diversas enfermedades y trastornos específicos. En determinadas realizaciones, la enfermedad o trastorno es enterocolitis necrotizante, esclerosis tuberosa, enfermedad de Tangier, síndrome de Wohlman, enfermedad intestinal inflamatoria, enfermedad de Crohn, colitis

5 ulcerosa, dermatopatías inflamatorias no contagiosas (DInc) tales como psoriasis o dermatitis atópica, desprendimiento de retina, retinosis pigmentaria, degeneración macular, pancreatitis (p. ej., pancreatitis aguda), dermatitis de interfase (p. ej., lupus eritematoso cutáneo, liquen plano, liquen plano pilar, necrólisis epidérmica tóxica (NET), síndrome de Stevens-Johnson, enfermedad de injerto contra

10 huésped (EICH), alopecia areata, vitiligo), dermatitis atópica, artritis reumatoide, espondiloartritis, gota, AIJS, lupus eritematoso sistémico, síndrome de Sjögren, esclerodermia generalizada, síndrome antifosfolípido, vasculitis, artrosis, esteatohepatitis no alcohólica, esteatohepatitis alcohólica, hepatitis autoinmunitaria enfermedades hepatobiliares autoinmunitarias, colangitis esclerosante primaria,

15 nefritis, celiacía, PTI autoinmunitaria, rechazo de trasplante, daño de órganos sólidos por reperfusión/isquemia, sepsis, síndrome inflamatorio de respuesta sistémica (SIRS), accidente cerebrovascular, infarto de miocardio, enfermedad de Huntington, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, enfermedades alérgicas, asma, dermatitis atópica, esclerosis múltiple, diabetes de tipo 1,

20 granulomatosis de Wegener, sarcoidosis pulmonar, enfermedad de Behçet, síndrome febril asociado con la enzima convertidora de interleucina-1, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, síndrome periódico asociado al receptor del factor de necrosis tumoral, periodontitis, infección bacteriana, infección por estafilococos, infección por micobacterias, retinosis pigmentaria, gripe, síndrome respiratorio

25 agudo grave (SRAG), síndrome respiratorio de Oriente Medio (SROM), síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA), rechazo de trasplante, quemaduras o hipoxia. En determinadas realizaciones, la enfermedad o trastorno es traumatismo, isquemia, accidente cerebrovascular, infarto de miocardio, infección, tesaurosomosis lisosómica, enfermedad de Niemann-Pick, enfermedad de Gaucher, enfermedad

30 de Krabbe, sepsis, síndrome inflamatorio de respuesta sistémica (SIRS),

enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, esclerosis lateral amiotrófica (ELA/enfermedad de Lou Gehrig), enfermedad de Huntington, demencia asociada al VIH, encefalopatía, enfermedad retiniana degenerativa, glaucoma, degeneración macular senil, artritis reumatoide, dermatopatías inflamatorias no contagiosas (DInc) tales como psoriasis o dermatitis atópica, artropatía psoriásica o enfermedad intestinal inflamatoria.

En determinadas realizaciones, la enfermedad es la enterocolitis necrotizante, esclerosis tuberosa, enfermedad de Tangier, síndrome de Wohlman, enfermedad intestinal inflamatoria, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, psoriasis, desprendimiento de retina, retinosis pigmentaria, degeneración macular, pancreatitis (p. ej., pancreatitis aguda), dermatitis atópica, artritis reumatoide, artropatía psoriásica, espondiloartritis, gota, AIJS, lupus eritematoso sistémico, síndrome de Sjögren, esclerodermia generalizada, síndrome antifosfolipídico, vasculitis, artrosis, esteatohepatitis no alcohólica, esteatohepatitis alcohólica, hepatitis autoinmunitaria enfermedades hepatobiliares autoinmunitarias, colangitis esclerosante primaria, nefritis, celiaquía, PTI autoinmunitaria, rechazo de trasplante, isquemia, daño de órganos sólidos por reperusión/isquemia, isquemia cerebral, sepsis, síndrome inflamatorio de respuesta sistémica, accidente cerebrovascular, infarto de miocardio, enfermedad de Huntington, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, enfermedades alérgicas, asma, dermatitis atópica, esclerosis múltiple, diabetes de tipo 1, granulomatosis de Wegener, sarcoidosis pulmonar, enfermedad de Behçet, síndrome febril asociado con la enzima convertidora de interleucina-1, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, síndrome periódico asociado al receptor del factor de necrosis tumoral, periodontitis, infección, infección bacteriana, infección por estafilococos, infección por micobacterias, gripe, rechazo de trasplante, quemaduras, hipoxia, traumatismo, accidente cerebrovascular, infarto de miocardio, tesarismosis lisosómica, enfermedad de Niemann-Pick, enfermedad de Gaucher, enfermedad de Krabbe, esclerosis lateral amiotrófica (ELA/enfermedad de Lou Gehrig), demencia asociada al VIH, encefalopatía, enfermedad degenerativa retiniana,

glaucoma, degeneración macular senil, ataxia de Friedreich, enfermedad de cuerpos de Lewy, neuropatía diabética, enfermedades poliglutamínicas (poliQ), enfermedad de Fahr, enfermedad de Menke, enfermedad de Wilson, un trastorno priónico, aterosclerosis, síndrome de Guillain-Barré, polineuropatía

- 5 desmielinizante inflamatoria crónica, trastorno depresivo mayor, trastorno bipolar, deliro, deterioro cognitivo posoperatorio, autismo, esquizofrenia, hidrosadenitis supurativa o incontinencia pigmentaria.

En determinadas realizaciones, la enfermedad o trastorno es la enfermedad de Alzheimer, ELA, ataxia de Friedreich, enfermedad de Huntington, enfermedad de cuerpos de Lewy, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, 10 esclerosis múltiple, neuropatía diabética, enfermedades poliglutamínicas (poliQ), accidente cerebrovascular, enfermedad de Fahr, enfermedad de Menke, enfermedad de Wilson, isquemia cerebral, tesarismosis lisosómica o un trastorno priónico. En determinadas realizaciones, la enfermedad es ELA. En determinadas realizaciones, la enfermedad es enfermedad de Alzheimer. En determinadas 15 realizaciones, la enfermedad es tesarismosis lisosómica. En determinadas realizaciones, la enfermedad es enfermedad de Parkinson. En determinadas realizaciones, el trastorno es una enfermedad isquémica de órganos que incluyen, pero no se limitan a, el cerebro, corazón, riñón e hígado. En algunas realizaciones diferentes, el trastorno es un trastorno ocular tal como enfermedad degenerativa 20 retiniana, glaucoma o degeneración macular senil. En algunas realizaciones diferentes, el trastorno es un trastorno del sistema nervioso central (SNC).

En determinadas realizaciones, se proporciona un método de tratamiento de la artritis reumatoide (véanse Lawlor KE, *et al.*, *Nat Commun.* 2015, 6282; Lee 25 SH, *et al.*, *Sci Rep.*, 7, 2017, 10133), artritis idiopática juvenil sistémica (AIJS), espondiloartritis, artrosis, dermatopatías inflamatorias no contagiosas (DInc) tales como psoriasis o dermatitis atópica, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa o esclerosis múltiple, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto como los que se proporcionan en el presente documento 30 a un sujeto que lo necesita. En determinadas realizaciones, se proporciona un

método de tratamiento de la hepatitis autoinmunitaria, aterosclerosis, dermatosis neutrofílica o una enfermedad rara inducida por mutaciones en A20, NEMO y/o LUBAC, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la divulgación a un sujeto que lo necesita.

- 5 En determinadas realizaciones, los compuestos y las composiciones son útiles para tratar dermopatías inflamatorias no contagiosas (DInc) tales como psoriasis o dermatitis atópica.

En determinadas realizaciones, el trastorno es una enfermedad inflamatoria de los intestinos tal como la enfermedad de Crohn o la colitis ulcerosa (ambas
10 conocidas en conjunto, en general, como enfermedad intestinal inflamatoria, EII). Sin desear ceñirse a ninguna teoría, se cree que la inhibición de la proteína·cinasa 1 que interacciona con receptores mediante los compuestos divulgados en el presente documento es responsable, al menos en parte, de su actividad antiinflamatoria. Por consiguiente, las realizaciones de la divulgación
15 también incluyen métodos para inhibir la proteína·cinasa 1 que interacciona con receptores, ya sea *in vitro* o en un sujeto que lo necesita, el método comprende poner en contacto una proteína·cinasa 1 que interacciona con receptores con un compuesto divulgado en el presente documento. En algunas de estas realizaciones, la inhibición de la proteína·cinasa 1 que interacciona con
20 receptores es eficaz para bloquear (en parte o por completo) la liberación de mediadores inflamatorios tales como TNF y/o IL6.

Dondelinger *et al.*, *Molecular Cell* 60, 1 de octubre de 2015, páginas 63-76, reporta que el mecanismo molecular que regula la contribución de RIPK1 a la muerte celular se comprende bastante menos. Se muestra que el complejo de
25 IKK, que incluye NEMO/IKKy, regula negativamente la activación de RIPK1 en el complejo I de TNFR1 por fosforilación y protege las células frente a la muerte dependiente de la cinasa RIPK1, con independencia de su función en la activación de NF-κB.

Dirk A. Ridder *et al.*, *J Exp Med* (2015) 212 (10): 1529–1549 muestra que la
30 deleción de NEMO o Tak1 en células endoteliales cerebrales en ratones conduce

a un fenotipo reminiscente de síntomas neurológicos asociados con IP

Smahi A, *et al.*, “Genomic rearrangement in NEMO impairs NF- κ B activation and is a cause of incontinentia pigmenti. The International Incontinentia Pigmenti (IP) Consortium”. *Nature*. 2000; 405:466–72.

5 También se proporciona una visión general sobre la IP en Fusco *et al.*, *Orphanet Journal of Rare Diseases* 2014, 9:93.

La incontinencia pigmentosa (IP) es una afección genética que afecta a la piel y otros sistemas corporales. Los síntomas cutáneos cambian con el tiempo y comienzan con un exantema ampolloso en la infancia, seguido de lesiones
10 cutáneas verrugosas. Las lesiones se transforman en máculas grises o pardas espirales, y después máculas claras espirales en la edad adulta. Otros signos y síntomas pueden incluir la caída del cabello, dientes pequeños o ausencia de dientes, anomalías oculares que pueden conducir a la pérdida de visión y uñas picadas o estriadas. La mayoría de las personas con IP tienen una inteligencia
15 normal, pero algunas tienen retraso del desarrollo, discapacidad intelectual, convulsiones y/u otros problemas neurológicos. La IP se debe a mutaciones en el gen de IKBKG y se hereda de una manera dominante ligada al cromosoma X.

En otra realización, los compuestos de fórmula I y las composiciones son útiles para tratar la incontinencia pigmentosa.

20 **Enfermedades o trastornos inflamatorios**

Los inhibidores de la proteína quinasa 1 que interacciona con receptores descritos en el presente documento se pueden utilizar para tratar enfermedades y trastornos inflamatorios. Las enfermedades y trastornos inflamatorios normalmente presentan niveles altos de inflamación en los tejidos conjuntivos o degeneración
25 de estos tejidos.

Los ejemplos no limitantes de enfermedades y trastornos inflamatorios incluyen la enfermedad de Alzheimer, espondilitis anquilosante, artritis que incluye artrosis, artritis reumatoide (AR), dermatopatías inflamatorias no contagiosas (DInc) tales como psoriasis o dermatitis atópica, asma, aterosclerosis, enfermedad de
30 Crohn, colitis, dermatitis, diverticulitis, fibromialgia, hepatitis, síndrome del intestino

irritable (SII), enfermedad intestinal inflamatoria (EII), lupus eritematoso sistémico (LES), nefritis, enfermedad de Parkinson y colitis ulcerosa. En determinadas realizaciones, los compuestos y las composiciones de la presente divulgación son útiles para tratar un trastorno autoinmunitario, tal como la artritis reumatoide, psoriasis, artropatía psoriásica, encefalitis, rechazo de injerto, enfermedades tiroideas autoinmunitarias (tales como la enfermedad de Graves y la tiroiditis de Hashimoto), uveorretinitis autoinmunitaria, arteritis gigantocelular, enfermedades intestinales inflamatorias (que incluyen la enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, enteritis regional, enteritis granulomatosa, ileítis distal, ileítis regional e ileítis terminal), diabetes mellitus de tipo 1, esclerosis múltiple, anemia perniciosa, sarcoidosis, esclerodermia y lupus eritematoso sistémico. En una realización, los inhibidores de la proteína·cinasa 1 que interacciona con receptores descritos en el presente documento son útiles para tratar la encefalitis autoinmunitaria. En determinadas realizaciones, los compuestos y las composiciones son útiles para tratar la artritis reumatoide (AR). En determinadas realizaciones, los compuestos y las composiciones son útiles para tratar la colitis ulcerosa. En determinadas realizaciones, los compuestos y las composiciones son útiles para tratar dermatopatías inflamatorias no contagiosas (DInc) tales como psoriasis o dermatitis atópica.

En determinadas realizaciones, el trastorno es una enfermedad inflamatoria de los intestinos tal como la enfermedad de Crohn o la colitis ulcerosa (ambas conocidas en conjunto, en general, como enfermedad intestinal inflamatoria). En determinadas realizaciones, el mamífero es un sujeto que es un primate, perro o gato. En determinadas realizaciones, el mamífero es un sujeto humano. Sin desear ceñirse a ninguna teoría, se cree que la inhibición de la proteína·cinasa 1 que interacciona con receptores mediante los compuestos divulgados en el presente documento es responsable, al menos en parte, de su actividad antiinflamatoria.

Por consiguiente, las realizaciones de la divulgación también incluyen métodos para inhibir la proteína·cinasa 1 que interacciona con receptores, ya sea

in vitro o en un sujeto que lo necesita, el método comprende poner en contacto una proteína·cinasa 1 que interacciona con receptores con un compuesto divulgado en el presente documento. En algunas de estas realizaciones, la inhibición de la proteína·cinasa 1 que interacciona con receptores es eficaz para
 5 bloquear (en parte o por completo) la liberación de mediadores inflamatorios tales como TNF y/o IL6.

En otra realización, los inhibidores de la proteína·cinasa 1 que interacciona con receptores descritos en el presente documento se pueden utilizar para tratar enfermedades y trastornos inflamatorios como la artritis reumatoide (AR),
 10 psoriasis, enfermedad intestinal inflamatoria (EII) como la enfermedad de Crohn o colitis ulcerosa.

En otra realización, los inhibidores de la proteína·cinasa 1 que interacciona con receptores descritos en el presente documento se pueden utilizar para tratar la dermatitis de interfase como el lupus eritematoso cutáneo (LEC), liquen plano
 15 (LP), necrólisis epidérmica tóxica (NET) o síndrome de Stevens–Johnson (SSJ).

En otra realización, los inhibidores de la proteína·cinasa 1 que interacciona con receptores descritos en el presente documento se pueden utilizar para tratar la hiperinflamación durante una infección vírica como la enfermedad coronavírica de 2019 (COVID-19), síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA), síndrome
 20 inflamatorio de respuesta sistémica (SIRS).

En otra realización, los inhibidores de la proteína·cinasa 1 que interacciona con receptores descritos en el presente documento se pueden utilizar para tratar la enfermedad coronavírica de 2019 (COVID-19).

En otra realización, los inhibidores de la proteína·cinasa 1 que interacciona
 25 con receptores descritos en el presente documento se pueden utilizar para tratar enfermedades respiratorias como la gripe (p. ej., gripe porcina, H7N9), síndrome respiratorio agudo grave (SRAG), síndrome respiratorio de Oriente Medio (SROM), virus respiratorio sincicial (VRS) o bronquiolitis).

Enfermedades celulares necróticas

30 Los compuestos descritos en el presente documento se pueden utilizar para

el tratamiento de enfermedades/trastornos provocados por o bien asociados con la necrosis celular. En particular, la divulgación proporciona métodos para prevenir o tratar un trastorno asociado con la necrosis celular en un mamífero que comprenden el paso de administrar a dicho mamífero una cantidad

5 terapéuticamente eficaz de un compuesto o composición que se describe en el presente documento. El término “enfermedad celular necrótica” se refiere a enfermedades asociadas con o provocadas por la necrosis celular, por ejemplo, traumatismo, isquemia, accidente cerebrovascular, infarto de miocardio, infección, enfermedad de Gaucher, enfermedad de Krabbe, sepsis, síndrome inflamatorio de
10 respuesta sistémica (SIRS), enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, esclerosis lateral amiotrófica, enfermedad de Huntington, demencia asociada al VIH, enfermedad retiniana degenerativa, glaucoma, degeneración macular senil, artritis reumatoide, dermatitis atópica, artropatía psoriásica o enfermedad intestinal
15 inflamatoria.

Las enfermedades celulares necróticas pueden ser enfermedades agudas tales como traumatismo, isquemia, accidente cerebrovascular, infarto de miocardio, choque tóxico inducido por la toxina letal del carbunco, sepsis, síndrome inflamatorio de respuesta sistémica (SIRS), muerte celular inducida por
20 LPS y muerte de linfocitos T inducida por VIH que conduce a inmunodeficiencia. En determinadas realizaciones, el trastorno es una enfermedad isquémica de órganos que incluyen, pero no se limitan a, el cerebro, corazón, riñón e hígado.

Las enfermedades celulares necróticas también incluyen enfermedades neurodegenerativas crónicas tales como la enfermedad de Parkinson, enfermedad
25 de Huntington, esclerosis lateral amiotrófica, enfermedad de Alzheimer, encefalopatías infecciosas, demencia tal como la demencia asociada al VIH. En algunas realizaciones diferentes, el trastorno es un trastorno ocular tal como enfermedad degenerativa retiniana, glaucoma o degeneración macular senil. En algunas realizaciones diferentes, el trastorno es un trastorno del sistema nervioso
30 central (SNC).

Enfermedades neurodegenerativas y del SNC

Los inhibidores de la proteína · cinasa 1 que interacciona con receptores descritos en el presente documento también se pueden utilizar para tratar enfermedades neurodegenerativas. Las enfermedades neurodegenerativas pueden afectar a muchas actividades del cuerpo tales como el equilibrio, el movimiento, el habla, la respiración y la actividad cardíaca. Las enfermedades neurodegenerativas pueden ser genéticas o pueden ser provocadas por afecciones médicas tales como el alcoholismo, tumores, accidentes cerebrovasculares, toxinas, productos químicos y virus. Los ejemplos no limitantes de enfermedades neurovegetativas incluyen la enfermedad de Alzheimer, esclerosis lateral amiotrófica (ELA), ataxia de Friedreich, enfermedad de Huntington, enfermedad de cuerpos de Lewy, enfermedad de Parkinson y atrofia muscular espinal. En determinadas realizaciones, las enfermedades neurodegenerativas y enfermedades del SNC incluyen la enfermedad de Niemann–Pick de tipo C1 (NPC1), enfermedad de Alzheimer, esclerosis lateral amiotrófica (ELA), ataxia de Friedreich, enfermedad de Huntington, enfermedad de cuerpos de Lewy, enfermedad de Parkinson y atrofia muscular espinal.

En determinadas realizaciones, los inhibidores de la proteína · cinasa 1 que interacciona con receptores descritos en el presente documento se pueden utilizar para tratar NPC1 a través de la inhibición de la necroptosis que provoca la pérdida de neuronas. En determinadas realizaciones, los compuestos y las composiciones de la presente divulgación son útiles para tratar la enfermedad de Alzheimer. En determinadas realizaciones, los compuestos y las composiciones de la presente divulgación son útiles para tratar la enfermedad de Parkinson. En determinadas realizaciones, los compuestos y las composiciones de la presente divulgación son útiles para tratar la esclerosis lateral amiotrófica (ELA).

Más generalmente, los inhibidores de la proteína · cinasa 1 que interacciona con receptores descritos en el presente documento se pueden utilizar para conservar la viabilidad de las neuronas y fomentar el crecimiento de los axones y las funciones nerviosas dentro del sistema nervioso central (SNC). Por

consiguiente, los compuestos se pueden utilizar para reducir o incluso invertir la pérdida de funciones cognitivas, motoras y sensoriales asociada con una enfermedad o trastorno del SNC, conservando la viabilidad de las neuronas y/o fomentando la regeneración de los axones y/o las funciones nerviosas.

- 5 Los inhibidores de la proteína··cinasa 1 que interacciona con receptores descritos en el presente documento se pueden utilizar en un método para fomentar la regeneración de los axones en una neurona del SNC, tal como una neurona sensorial del SNC, una motoneurona, una neurona cortical, una neurona cerebelosa, una neurona hipocámpica y una neurona mesencefálica. Los
- 10 inhibidores de la proteína··cinasa 1 que interacciona con receptores descritos en el presente documento se pueden utilizar en un método para fomentar la función nerviosa o conservar la viabilidad tras la lesión en una neurona del SNC. En otras realizaciones, estos compuestos se pueden utilizar para fomentar la regeneración de un axón en una neurona del SNC que se degenera en la enfermedad o
- 15 trastorno del SNC. Los inhibidores de la proteína··cinasa 1 que interacciona con receptores RIP se pueden administrar de cualquier modo convencional, tal como localmente a la neurona, o aplicar *ex vivo* antes de la reimplantación.

Por consiguiente, en un aspecto, la divulgación proporciona un método de tratamiento de un trastorno del SNC en un sujeto que lo necesita, en donde un

20 síntoma del trastorno del SNC es la degeneración axónica o la lesión en una neurona del SNC. El método comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz de un compuesto o composición que se divulga en el presente documento para fomentar de este modo la regeneración de un axón en una neurona del SNC afectada por el trastorno del SNC. Tras la administración, se pueden medir las

25 funciones neuronales, por ejemplo, como una indicación de la regeneración axónica. También se contempla que, tras la administración del compuesto o composición, la función neuronal de la neurona del SNC se conserva o mejora con respecto a la función neuronal antes de la administración.

Los ejemplos no limitantes de enfermedades o trastornos del SNC incluyen

30 la lesión cerebral, lesión de la médula espinal, demencia, accidente

cerebrovascular, enfermedad de Alzheimer, esclerosis lateral amiotrófica (ELA/enfermedad de Lou Gehrig), enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, esclerosis múltiple, neuropatía diabética, enfermedades poliglutamínicas (poliQ), accidente cerebrovascular, enfermedad de Fahr, enfermedad de Menke, enfermedad de Wilson, isquemia cerebral y un trastorno priónico.

En realizaciones a modo de ejemplo, el trastorno del SNC es una lesión cerebral o lesión de la médula espinal.

También se proporcionan en el presente documento métodos para fomentar la supervivencia neuronal y la regeneración axónica en el SNC. Los trastornos del SNC caracterizados por la falla o alteración del crecimiento axónico, o la degeneración axónica pueden surgir a raíz de una lesión neuronal del SNC (p. ej., traumatismo, cirugía, compresión nerviosa, contusión nerviosa, transección nerviosa, neurotoxicidad u otra lesión física en el cerebro o la médula espinal) o enfermedad neurodegenerativa del SNC, en donde un síntoma del trastorno es la degeneración axónica (p. ej., enfermedad de Alzheimer, esclerosis lateral amiotrófica (ELA/enfermedad de Lou Gehrig), enfermedad de Parkinson, esclerosis múltiple, neuropatía diabética, enfermedades poliglutamínicas (poliQ), accidente cerebrovascular, enfermedad de Fahr, enfermedad de Menke, enfermedad de Wilson, isquemia cerebral, trastorno priónico (p. ej., enfermedad de Creutzfeldt-Jakob). En determinadas realizaciones, el trastorno del SNC es una lesión cerebral (p. ej., traumatismo craneoencefálico) o lesión de la médula espinal (p. ej., lesión de la médula espinal crónica, aguda o traumática). En determinadas realizaciones, el trastorno del SNC afecta a las funciones vitales básicas de un sujeto tales como la respiración, el ritmo cardíaco y la presión arterial, p. ej., una lesión o aneurisma en el tronco encefálico. En determinadas realizaciones, la enfermedad o trastorno del SNC afecta a la capacidad cognitiva de un sujeto. En determinadas realizaciones, la enfermedad o trastorno del SNC afecta al movimiento y/o la resistencia de un sujeto. En determinadas realizaciones, la enfermedad o trastorno del SNC afecta a la coordinación de un sujeto.

En determinadas realizaciones, el trastorno del SNC afecta a la capacidad cognitiva de un sujeto, tal como, una lesión cerebral en la corteza cerebral o un trastorno neurodegenerativo del SNC, tal como la enfermedad de Alzheimer, demencia frontotemporal, demencia con cuerpos de Lewy, degeneración

5 corticobasal, parálisis supranuclear progresiva y trastornos priónicos.

En determinadas realizaciones, el trastorno del SNC afecta al movimiento y/o la resistencia de un sujeto, tal como la lesión en el cerebro o la médula espinal o un trastorno neurodegenerativo del SNC tal como la enfermedad de Parkinson, demencia frontotemporal, demencia con cuerpos de Lewy, degeneración

10 corticobasal, parálisis supranuclear progresiva, enfermedad de Huntington, atrofia multisistémica, esclerosis lateral amiotrófica y parálisis cerebral hereditaria.

En determinadas realizaciones, el trastorno del SNC afecta a la coordinación de un sujeto, tal como una lesión cerebral en el cerebelo o un trastorno neurodegenerativo del SNC tal como atrofas espinocerebelosas, ataxia

15 de Friedreich y trastornos priónicos.

En cada uno de los métodos anteriores, el trastorno del SNC incluye, pero no se limita a, lesión cerebral, lesión de la médula espinal, enfermedad de Alzheimer, esclerosis lateral amiotrófica (ELA/enfermedad de Lou Gehrig), enfermedad de Parkinson, esclerosis múltiple, neuropatía diabética, enfermedades

20 poliglutamínicas (poliQ), accidente cerebrovascular, enfermedad de Fahr, enfermedad de Menke, enfermedad de Wilson, isquemia cerebral, un trastorno priónico (p. ej., enfermedad de Creutzfeldt-Jakob), demencia (p. ej., demencia frontotemporal, demencia con cuerpos de Lewy), degeneración corticobasal, parálisis supranuclear progresiva, atrofia multisistémica, parálisis cerebral

25 hereditaria y atrofas espinocerebelosas.

Los ejemplos no limitantes de enfermedades neurovegetativas incluyen la enfermedad de Alzheimer, tesarismosis lisosómicas, esclerosis lateral amiotrófica (ELA), ataxia de Friedreich, enfermedad de Huntington, enfermedad de cuerpos de Lewy, enfermedad de Parkinson y atrofia muscular espinal.

30 En determinadas realizaciones, los compuestos y las composiciones de la

presente divulgación son útiles para tratar la enfermedad de Alzheimer. En determinadas realizaciones, los compuestos y las composiciones de la presente divulgación son útiles para tratar la enfermedad de Parkinson. En determinadas realizaciones, los compuestos y las composiciones de la presente divulgación son
 5 útiles para tratar la esclerosis lateral amiotrófica (ELA). En determinadas realizaciones, los compuestos y las composiciones de la presente divulgación son útiles para tratar tesarismosis lisosómicas.

En determinadas realizaciones, el trastorno es un trastorno cerebral, tal como, pero sin limitarse a, la enfermedad de Alzheimer, ELA, demencias
 10 frontotemporales, demencia vascular, enfermedad de Huntington, enfermedad de Parkinson, demencia con cuerpos de Lewy, parálisis supranuclear progresiva, esclerosis múltiple, neuromielitis óptica, lesión cerebral isquémica (accidente cerebrovascular), lesión cerebral hipóxica, traumatismo craneoencefálico, lesión de la médula espinal, lesión cerebral inducida por sepsis, infecciones del SNC,
 15 abscesos del SNC, glioblastoma multiforme, epilepsia, dolor neuropático, depresión mayor, depresión bipolar, esquizofrenia, autismo, enfermedad de Niemann-Pick, manifestaciones neurológicas de la enfermedad de Behçet.

En determinadas realizaciones, se proporciona un método de tratamiento de una enfermedad o trastorno el SNC que comprende administrar una cantidad
 20 terapéuticamente eficaz de un compuesto como se proporciona en el presente documento a un sujeto que lo necesita. En determinadas realizaciones, la enfermedad o trastorno es la enfermedad de Alzheimer o esclerosis lateral amiotrófica (ELA).

Afecciones oculares

25 Los inhibidores de la proteína quinasa 1 que interacciona con receptores descritos en el presente documento también se pueden utilizar para tratar afecciones oculares, por ejemplo, para reducir o prevenir la pérdida de viabilidad de las células fotorreceptoras y/o epiteliales de la retina.

En determinadas realizaciones, la divulgación proporciona un método de
 30 conservación de la capacidad visual de un ojo de un sujeto con una afección

ocular, en donde un síntoma de la afección ocular es la pérdida de viabilidad de las células fotorreceptoras en la retina del ojo con la afección. El método comprende administrar al ojo del sujeto una cantidad eficaz de un compuesto o composición que se describe en el presente documento, conservando de este modo la viabilidad de las células fotorreceptoras dispuestas dentro de la retina del ojo. Tras de la administración, la capacidad visual (p. ej., agudeza visual) del ojo se puede conservar o mejorar en relación con la capacidad visual del ojo antes de la administración.

La afección ocular puede ser degeneración macular senil (DMS), retinosis pigmentosa (RP), edema macular, retinopatía diabética, distrofia coroidea areolar central, enfermedad de BEST, enfermedad viteliforme del adulto, distrofia en patrón, degeneración miópica, retinopatía serosa central, enfermedad de Stargardt, distrofia de conos y bastones, distrofia de Carolina del Norte, retinitis infecciosa, retinitis inflamatoria, uveítis, retinitis tóxica o toxicidad fotoinducida. La DMS puede ser la forma seca o la neurovascular de la DMS. El desprendimiento de retina puede ser un desprendimiento de retina regmatógeno, uno seroso y uno tradicional. En determinadas realizaciones, la afección ocular puede ser atrofia geográfica, glaucoma u otra enfermedad ocular isquémica. En determinadas realizaciones, la divulgación proporciona un método de conservación de la viabilidad de las células del epitelio pigmentario de la retina (EPR) dentro de la retina de un sujeto con una afección ocular con la administración de un compuesto de la presente divulgación. El sujeto que se está tratando puede tener una pérdida de células del epitelio pigmentario de la retina en la retina del ojo con la afección y la afección ocular puede ser degeneración macular senil (DMS), enfermedad de BEST, degeneración miópica, enfermedad de Stargardt, uveítis, distrofia foveomacular del adulto, fundus flavimaculatus, síndrome de múltiples puntos blancos evanescentes, coroiditis serpiginosa, epitelio patía placode posterior multifocal aguda (EPPMA) u otro trastorno de uveítis. En determinadas realizaciones, el método comprende administrar al ojo del sujeto una cantidad eficaz de un compuesto o composición que se describe en el presente documento,

conservando de este modo la viabilidad de las células del epitelio pigmentario de la retina. En otra realización, se proporciona un método de conservación de la viabilidad de las células fotorreceptoras dispuestas dentro de la retina de un sujeto con degeneración macular senil (DMS), retinosis pigmentosa (RP), edema macular, retinopatía diabética, distrofia coroidea areolar central, enfermedad de BEST, enfermedad viteliforme del adulto, distrofia en patrón, degeneración miópica, retinopatía serosa central, enfermedad de Stargardt, distrofia de conos y bastones, distrofia de Carolina del Norte, retinitis infecciosa, retinitis inflamatoria, uveítis, retinitis tóxica o toxicidad fotoinducida. Por lo tanto, en determinadas realizaciones, el método comprende administrar al ojo una cantidad eficaz de un compuesto o composición que se describe en el presente documento, conservando de este modo la viabilidad de las células fotorreceptoras dispuestas dentro de la retina del sujeto con una afección. En otra realización, se proporciona un método de conservación de la viabilidad de las células fotorreceptoras dispuestas dentro de la retina de un ojo de mamífero después del desprendimiento de retina. El desprendimiento de retina puede ser un desprendimiento de retina regmatógeno, desprendimiento de retina tradicional o desprendimiento de retina seroso. En otras realizaciones, el desprendimiento de retina puede ocurrir como resultado de un desgarro de retina, retinoblastoma, melanoma u otros cánceres, retinopatía diabética, uveítis, neovascularización coroidea, isquemia retiniana, miopía patológica o traumatismo. En determinadas realizaciones, el método comprende administrar un compuesto o composición que se describe en el presente documento al ojo en el que se ha desprendido una región de la retina en cantidades suficientes para conservar la viabilidad de las células fotorreceptoras dispuestas dentro de la región de la retina desprendida. En otra realización, se proporciona un método de conservación de la capacidad visual de un ojo de un sujeto con degeneración macular senil (DMS), retinosis pigmentosa (RP), edema macular, distrofia coroidea areolar central, desprendimiento de retina, retinopatía diabética, enfermedad de BEST, enfermedad viteliforme del adulto, distrofia en patrón, degeneración miópica, retinopatía serosa central, enfermedad de

Stargardt, distrofia de conos y bastones, distrofia de Carolina del Norte, retinitis infecciosa, retinitis inflamatoria, uveítis, retinitis tóxica o toxicidad fotoinducida, en donde un síntoma de la afección ocular es la pérdida de células fotorreceptoras en la retina del ojo, en donde el método comprende tratar al sujeto con un compuesto o composición que se describe en el presente documento al sujeto. En otro aspecto, la divulgación proporciona un método de conservación de la capacidad visual del ojo de un sujeto con una afección ocular, en donde un síntoma de la afección ocular es la pérdida de viabilidad de las células fotorreceptoras y/o viabilidad de EPR en la retina del ojo, en donde el método comprende tratar al sujeto con un compuesto o composición que se describe en el presente documento al sujeto.

En determinadas realizaciones, se proporciona un método de conservación de la capacidad visual de un ojo de un sujeto con afecciones oculares, en donde un síntoma de la afección ocular es la pérdida de viabilidad de las células ganglionares de la retina en la retina del ojo con las afecciones. El método comprende administrar al ojo del sujeto una cantidad eficaz de un compuesto o composición, conservando de este modo la viabilidad de las células ganglionares de la retina dispuestas dentro de la retina del ojo. Tras de la administración del compuesto o composición, la capacidad visual del ojo se puede conservar o mejorar en relación con la capacidad visual del ojo antes de la administración. Además, tras la administración, la célula ganglionar de la retina conservada es capaz de apoyar la regeneración axónica.

Los ejemplos no limitantes de síntomas asociados con las afecciones oculares incluyen la pérdida de viabilidad de las células ganglionares de la retina en la retina del ojo, glaucoma, lesión del nervio óptico, neuritis óptica, neuropatías ópticas, retinopatía diabética, oclusión de la arteria retiniana central y oclusión de la vena retiniana central. Los compuestos descritos en el presente documento también se pueden utilizar para el tratamiento de neuropatías ópticas tales como la neuropatía óptica isquémica (p. ej., neuropatía isquémica anterior arterítica o no arterítica y neuropatía óptica isquémica posterior), neuropatía óptica compresiva,

neuropatía óptica infiltrativa, neuropatía óptica traumática, neuropatía óptica mitocondrial (p. ej., neuropatía óptica de Leber), neuropatía óptica nutricional, neuropatía óptica tóxica y neuropatía óptica hereditaria (p. ej., neuropatía óptica de Leber, atrofia óptica dominante, síndrome de Behr).

5 También se divulga un método de conservación de la capacidad visual del ojo de un sujeto con glaucoma, lesión del nervio óptico, neuropatías ópticas, retinopatía diabética, oclusión de la arteria retiniana central u oclusión de la vena retiniana central. El método comprende administrar al ojo del sujeto una cantidad eficaz de un compuesto o composición que se describe en el presente documento, conservando de este modo la viabilidad de las células ganglionares de la retina dispuestas dentro de la retina del ojo y la capacidad visual del ojo.

En otro aspecto, en el presente documento se divulga un método de conservación de la viabilidad de las células ganglionares de la retina dispuestas dentro de la retina de un ojo de mamífero afectado por, por ejemplo, glaucoma, lesión del nervio óptico, neuritis óptica, neuropatías ópticas, retinopatía diabética, oclusión de la arteria retiniana central y oclusión de la vena retiniana central. El método comprende administrar un compuesto o composición que se describe en el presente documento al ojo en el que se ha visto afectada una región de la retina en cantidades suficientes para conservar la viabilidad de las células ganglionares retinianas dispuestas dentro de la región de la retina afectada. La célula ganglionar retiniana conservada es capaz de apoyar la regeneración axónica, el síndrome de deficiencia por el complejo de ensamblaje de la cadena de ubiquitina lineal (LUBAC, por sus siglas en inglés), neoplasias hemáticas y de órganos sólidos, infecciones bacterianas e infecciones víricas (p. ej., tuberculosis y gripe o CoV-SRAG) y tesarismosis lisosómicas.

Los ejemplos no limitantes de tesarismosis lisosómicas incluyen la enfermedad de Gaucher, gangliosidosis GM2, alfa-manosidosis, aspartilglucosaminuria, tesarismosis por ésteres de colesterol, deficiencia crónica de hexosaminidasa A, cistinosis, enfermedad de Danon, enfermedad de Fabry, enfermedad de Farber, fucosidosis, galactosialidosis, gangliosidosis GM1,

mucopolipidosis, tesarismosis por ácido siálico libre infantil, deficiencia de hexosaminidasa A juvenil, enfermedad de Krabbe, deficiencia de lipasa ácida lisosómica, leucodistrofia metacromática, trastornos de mucopolisacaridosis, deficiencia múltiple de sulfatasa, enfermedad de Niemann-Pick, lipofuscinosis

5 ceroidea neuronal, enfermedad de Pompe, picnodisostosis, enfermedad de Sandhoff, enfermedad de Schindler, tesarismosis por ácido siálico, enfermedad de Tay-Sachs y Wolman.

En determinadas realizaciones, se proporcionan compuestos y composiciones para el uso en medicina. En determinadas realizaciones, los

10 compuestos y las composiciones son para el uso en el tratamiento de una enfermedad o trastorno mediado por la proteína·cinasa 1 que interacciona con receptores. También se proporciona un método de tratamiento de una enfermedad o trastorno mediado por la proteína·cinasa 1 que interacciona con receptores que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto o

15 composición farmacéutica que se divulga en el presente documento a un sujeto que lo necesita. En otra realización, la presente divulgación proporciona un método de inhibición de la proteína·cinasa 1 que interacciona con receptores. El método incluye poner en contacto la proteína·cinasa 1 que interacciona con receptores con una cantidad eficaz de un compuesto de la divulgación. Inhibir la

20 proteína·cinasa 1 que interacciona con receptores generalmente incluye poner en contacto la proteína·cinasa 1 que interacciona con receptores con una cantidad del compuesto de la divulgación suficiente para reducir la actividad de la proteína·cinasa 1 que interacciona con receptores en comparación con la actividad de la proteína·cinasa 1 que interacciona con receptores en ausencia del

25 compuesto. Por ejemplo, poner en contacto la proteína·cinasa 1 que interacciona con receptores con el compuesto de la divulgación puede dar como resultado de aproximadamente un 1 % a aproximadamente un 99 % de inhibición de la proteína·cinasa 1 que interacciona con receptores (es decir, la actividad de la enzima inhibida varía del 99 % al 1 % de la actividad enzimática en ausencia del

30 compuesto de la divulgación). El nivel de inhibición de la proteína·cinasa 1 que

interacciona con receptores puede variar de aproximadamente un 1 % a aproximadamente un 10 %, o de aproximadamente un 10 % a aproximadamente un 20 %, o de aproximadamente un 20 % a aproximadamente un 30 %, o de aproximadamente un 30 % a aproximadamente un 40 %, o de aproximadamente un 40 % a aproximadamente un 50 %, o de aproximadamente un 50 % a aproximadamente un 60 %, o de aproximadamente un 60 % a aproximadamente un 70 %, o de aproximadamente un 70 % a aproximadamente un 80 %, o de aproximadamente un 80 % a aproximadamente un 90 %, o de aproximadamente un 90 % a aproximadamente un 99 %. El nivel de inhibición de la proteína··cinasa 1 que interacciona con receptores puede variar de aproximadamente un 5 % a aproximadamente un 95 %, o de aproximadamente un 10 % a aproximadamente un 90 %, o de aproximadamente un 20 % a aproximadamente un 80 %, o de aproximadamente un 30 % a aproximadamente un 70 %, o de aproximadamente un 40 % a aproximadamente un 60 %. En algunas realizaciones, poner en contacto la proteína··cinasa 1 que interacciona con receptores con un compuesto de la divulgación dará como resultado una inhibición completa (es decir, de un 100 %).

Combiterapia

En determinadas realizaciones, los compuestos de la divulgación se pueden administrar combinados con al menos otro agente terapéuticamente activo. Los dos o más agentes se pueden coadministrar, coformular o administrar por separado. En determinadas realizaciones, el otro agente terapéuticamente activo se selecciona de un agente trombolítico, un activador tisular del plasminógeno, un anticoagulante, un inhibidor de la agregación plaquetaria, un agente antimicrobiano (un antibiótico, un antibiótico de amplio espectro, una lactama, un agente antimicobacteriano, un antibiótico bactericida, terapia anti-SARM), un agonista beta de acción prolongada, una combinación de un corticosteroide inhalado y un agonista beta de acción prolongada, un agonista beta de acción corta, un modificador de leucotrienos, un anti-IgE, un broncodilatador metilxantínico, un inhibidor de mastocitos, un inhibidor de cinasas de tirosinas

proteínicas, un antagonista del receptor prostanoide CRTH2/D, un aerosol de inhalación de epinefrina, un inhibidor de fosfodiesterasas, una combinación de un inhibidor de fosfodiesterasa-3 y un inhibidor de fosfodiesterasa-4, un anticolinérgico inhalado de acción prolongada, un antagonista muscarínico, un antagonista muscarínico de acción prolongada, un esteroide de dosis baja, un corticosteroide inhalado, un corticosteroide oral, un corticosteroide tópico, globulina antitimocítica, talidomida, clorambucilo, un bloqueador de los canales de calcio, un emoliente tópico, un inhibidor de ACE, un inhibidor de la recaptación de serotonina, un inhibidor del receptor de endotelina-I, un agente antifibrótico, un inhibidor de la bomba de protones, un potenciador del regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística, un agente mucolítico, enzimas pancreáticas, un broncodilatador, una inyección intravítrea oftálmica, un inhibidor anti-factor de crecimiento del endotelio vascular, un agente de tipo factor de crecimiento neurotrófico ciliar, una vacuna de la gripe inactivada trivalente (IIV3), una vacuna de la gripe inactivada cuadrivalente (IIV4), una vacuna de la gripe genotecnológica trivalente, una vacuna de la gripe atenuada con virus vivos cuadrivalente, un agente antivírico, vacuna de la gripe inactivada, un factor de crecimiento neurotrófico ciliar, un agente de transferencia de genes, un inmunomodulador tópico, inhibidor de la calcineurina, un interferón gamma, un antihistamínico, un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo policlonal anti-linfocitos T, un anticuerpo equino de globulina gamma antitimocítica, un anticuerpo de conejo de globulina antitimocítica, un antagonista anti-CD40, un inhibidor de JAK y un mAb murino anti-TCR.

Otros agentes terapéuticamente activos a modo de ejemplo incluyen heparina, coumadina, clopidrogel, dipiridamol, ticlopidina HCL, eptifibatida, aspirina, vacomicina, cefepima, una combinación de piperacilina y tazobactam, imipenem, meropenem, doripenem, ciprofloxacino, levofloxacino, ofloxacino, moxifloxacino, hidrocortisona, vedolizumab, alicaforsén, remestemcel-L, ixekizumab, tildrakizumab, secukinumab, clorhexidina, doxiciclina, minociclina, fluticasona (proprionato de fluticasona, furoato de fluticasona), dipropionato de

beclometasona, budesónida, acetónido de trimcinolona, flunisolida, fuorato de mometasona, ciclesónida, tartrato de arformoterol, fumarato de formoterol, xinafoato de salmeterol, albuterol (sulfato de albuterol), tartrato de levalbuterol, bromuro de ipratropio, montelukast sódico, zafirlukast, zileutón, omalizumab,

5 teofilina, cromulina sódica, nedocromilo sódico, masitinib, AMG 853, indacaterol, E004, reslizumab, salbutamol, bromuro de tiotropio, VR506, lebrikizumab, RPL554, afibercept, umeclidinio, maleato de indacaterol, bromuro de aclidinio, roflumilast, SCH527123, bromuro de glicopirronio, olodaterol, una combinación de furoato de fluticasona y vilanterol, una combinación de propionato de fluticasona y

10 salmeterol, una combinación de furoato de fluticasona y propionato de fluticasona, una combinación de propionato de fluticasona y fumarato de eformoterol dihidratado, una combinación de formoterol y budesónida, una combinación de dipropionato de beclometasona y formoterol, una combinación de furoato de mometasona y fumarato de formoterol dihidratado, una combinación de

15 umeclidinio y vilanterol, una combinación de bromuro de ipratropio y sulfato de albuterol, una combinación de bromuro de glicopirronio y maleato de indacaterol, una combinación de glicopirrolato y fumarato de formoterol, una combinación de aclidinio y formoterol, isoniazid, etambutol, rifampin, pirazinamida, rifabutina, rifapentina, capreomicina, levofloxacino, moxifloxacino, ofloxacino, etionamida,

20 cicloserina, kanamicina, estreptomicina, viomicina, fumarato de bedaquilina, PNU-100480, delamanid, imatinib, ARG201, tocilizumab, muromonab-CD3, basiliximab, daclizumab, rituximab, prednisolona, globulina antitimocítica, FK506 (tacrolimús), metotrexato, ciclosporina, sirólimus, everólimus, micofenolato sódico, micofenolato de mofetilo, ciclofosfamida, azatioprina, talidomida, clorambucilo, nifedipino,

25 nicardipino, nitroglicerina, lisinopril, diltiazem, fluoxetina, bosentán, epoprostenol, colquicina, ácido *para*-aminobenzoico, sulfóxido de dimetilo, D-penicilamina, interferón alfa, interferón gamma (INF-g), omeprazol, metoclopramida, lansoprazol, esomeprazol, pantoprazol, rabeprazol, imatinib, belimumab, ARG201, tocilizumab, ivacaftor, dornasa alfa, pancrelipasa, tobramicina, aztreonam, colistimetato sódico,

30 cefadroxil monohidratado, cefazolina, cefalexina, cefazolina, moxifloxacino,

levofloxacino, gemifloxacino, azitromicina, gentamicina, ceftazidima, una combinación de trimetoprim y sulfametoxazol, cloramfenicol, una combinación de ivacftor y lumacaftor, atalurén, NT-501-CNTF, un agente de transferencia del gen que codifica miosina VIIA (MY07A), ranibizumab, pegaptanib sódico, NT501, 5 sfingomab humanizado, bevacizumab, oseltamivir, zanamivir, rimantadina, amantadina, nafcilina, sulfametoxazolem, trimetoprim, sulfasalazina, acetilsulfisoxazol, vancomicina, muromonab-CD3, ASKP- 1240, ASP015K, TOL101, pimecrólimus, hidrocortizona, betametasona, flurandrenolida, triamcinolona, fluocinonida, clobetasol, hidrocortisona, metilprednisolona, 10 prednisolona, un interferón de tipo I sintético recombinante, interferón alfa-2a, interferón alfa-2b, hidroxizina, difenhidramina, flucloxacilina, dicloxacilina y eritromicina.

Un compuesto de la divulgación puede administrarse combinado con otros agentes antiinflamatorios para cualquiera de las indicaciones anteriores, que 15 incluyen corticoesteroides orales o tópicos, agentes anti-TNF, preparados de ácido 5-aminosalicílico y mesalamina, hidroxiclороquina, tiopurinas, metotrexato, ciclofosfamida, ciclosporina, inhibidores de calcineurina, ácido micofenólico, inhibidores de mTOR, inhibidores de JAK, inhibidores de Syk, agentes biológicos antiinflamatorios que incluyen biofármacos anti-IL6, agentes anti-IL1, biofármacos 20 anti-IL17, anti-CD22, agentes anti-integrina, anti-IFNa, biofármacos anti-CD20 o CD4 y otros inhibidores de citocinas o biofármacos contra receptores de linfocitos T o linfocitos B, o interleucinas.

En el tratamiento de ELA, un compuesto de la divulgación se puede administrar combinado con riluzol.

25 En el tratamiento de la enfermedad de Parkinson, un compuesto de la divulgación se puede administrar combinado con levodopa, carbodopa o una combinación de estas, pramipexol, ropinirol, rotigotina, selegilina, rasagilina, entacapona, tolcapona, benztropina, trihexifenidilo o amantadina.

En el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer, un compuesto de la 30 divulgación se puede administrar combinado con donepezilo, galantamina,

memantina, rivastigmina, terapias anti-ABeta (amiloide beta) que incluyen aducanumab, crenezumab, solanezumab y gantenerumab, inhibidores de molécula pequeña de BACE1 que incluyen verubecestat, AZD3293 (LY3314814), elenbecestat (E2609), LY2886721, PF-05297909, JNJ-54861911, TAK-070, VTP-
 5 37948, HPP854, CTS-21166, o terapias anti-tau tales como LMTM (leuco-metiltioninio-bis (hidrometanosulfonato®).

En el tratamiento de la artritis reumatoide, un compuesto de la divulgación se puede administrar combinado con ibuprofeno, naproxeno, prednisona, metotrexato, leflunomida, hidroxicloroquina, sulfasalazina, abatacept, adalimumab,
 10 anakinra, certolizumab, etanercept, golimumab, infliximab, rituximab, tocilizumab o tofacitinib.

En el tratamiento del ACV, un compuesto de la divulgación se puede administrar combinado con un agente trombótico (tal como un activador tisular del plasminógeno), un anticoagulante (tal como heparina, coumadina, clopidrogel y un
 15 inhibidor de la agregación plaquetaria (tal como dipiridamol, ticlopidina HCL, eptifibatida y/o aspirina).

En el tratamiento de SIRS, un compuesto de la divulgación se puede administrar combinado con un antibiótico de amplio espectro (tal como vacomicina) u otra terapia anti-SARM (cefepima, piperacilina/tazobactam,
 20 carbapenem (imipenem, meropenem, doripenem), quinolonas (ciprofloxacino, levofloxacino, ofloxacino, moxifloxacino, etc.) y esteroides de dosis baja tales como hidrocortisonas.

En el tratamiento de la enfermedad intestinal inflamatoria (en particular, la enfermedad de Crohn y/o la colitis ulcerosa), un compuesto de cualquier fórmula
 25 que se describe en el presente documento se puede administrar combinado con vedolizumab, alicaforsén o remestemcel-L. Específicamente, en el tratamiento de la enfermedad intestinal inflamatoria (en particular, la enfermedad de Crohn y/o la colitis ulcerosa), un compuesto de la divulgación se puede administrar combinado con alicaforsén o remestemcel-L.

30 En el tratamiento de dermatopatías inflamatorias no contagiosas (DInc) tales

como psoriasis o dermatitis atópica, un compuesto de la divulgación se puede administrar combinado con ixekizumab, tildrakizumab (MK-3222) o secukinumab (AIN457).

5 Específicamente, en el tratamiento de dermatopatías inflamatorias no contagiosas (DInc) tales como psoriasis o dermatitis atópica, un compuesto de la divulgación se puede administrar combinado con ixekizumab o tildrakizumab (MK-3222). En el tratamiento de la periodonitis, un compuesto de cualquier fórmula que se describe en el presente documento se puede administrar combinado con un agente antimicrobiano (tal como clorhexidina) o un antibiótico (tal como doxiciclina
10 o minociclina).

En el tratamiento del asma, un compuesto de cualquier fórmula que se describe en el presente documento se puede administrar combinado con un corticosteroide inhalado ((CEI) tal como propionato de fluticasona, dipropionato de beclometasona, budesónida (Pulmicort), acetónido de triamcinolona, flunisolida,
15 fuorato de mometasona o Ciclesónida, un agonista beta de acción prolongada ((ABAP) tal como fumarato de formoterol, xinafoato de salmeterol), una combinación de un CEI y ABAP (tal como furoato de fluticasona y vilanterol, inhalación de formoterol/budesónida, dipropionato de beclometasona/formoterol y propionato de fluticasona/salmeterol, un agonista beta de acción corta ((ABAC) tal
20 como sulfato de albuterol, tartrato de levalbuterol, bromuro de ipratropio/albuterol, bromuro de ipratropio, un modificador de leucotrienos (tal como montelukast sódico, zafirlukast o zileutón y anti-IgE (tal como omalizumab), un broncodilatador metilxantínico (tal como teofilina, un inhibidor de mastocitos (tal como cromolín sódico y nedocromilo sódico, un antagonista muscarínico de acción prolongada
25 ((AMAP) tal como furoato de mometasona/fumarato de formoterol dihidratado).

Otros agentes que pueden ser adecuados para el uso en combiterapia en el tratamiento del asma incluyen un inhibidor de cinasas de tirosinas proteínicas (masitinib), antagonista del receptor de prostanoïdes CRTH2/D (AMG 853), indacaterol, un aerosol de inhalación de epinefrina (E004), furoato de
30 fluticasona/propionato de fluticasona, inhalación de vilanterol/furoato de fluticasona

en polvo, propionato de fluticasona/fumarato de eformoterol dihidratado, reslizumab, inhalación de salbutamol en polvo seco, bromuro de tiotropio, formoterol/budesónida, furoato de fluticasona, VR506 de Vectura, lebrikizumab (RG3637), una combinación de inhibidor de fosfodiesterasa (PDE)-3 y (PDE)-4 (RPL554).

En el tratamiento de EPOC, un compuesto de cualquier fórmula que se describe en el presente documento se puede administrar combinado con un ABAP (tal como xinafoato de salmeterol, umeclidinio/vilanterol, umeclidinio, tartrato de arformoterol, polvo de inhalación de fumarato de formoterol, maleato de indacaterol o propionato de fluticasona/fumarato de eformoterol dihidratado, un anticolinérgico inhalado de acción prolongada (o antagonista muscarínico, tal como bromuro de tiotropio y bromuro de aclidinio, un inhibidor de fosfodiesterasa (PDE-r) (tal como roflumilast, Daliresp), una combinación de CEI/ABAP (tal como furoato de fluticasona y vilanterol, propionato de fluticasona/salmeterol, budesónida/formoterol, mometasona/formoterol, bromuro de ipratropio/sulfato de albuterol, albuterol/ipratropio, un ABAC (tal como bromuro de ipratropio y sulfato de albuterol, y un CEI (tal como budesónida y propionato de fluticasona, dipropionato de beclometasona.

Otros agentes que pueden ser adecuados para el uso en combiterapia en el tratamiento de EPOC incluyen SCH527123 (un antagonista de CXCR2), bromuro de glicopirronio (NVA237), bromuro de glicopirronio y maleato de indacaterol (QVA149), glicopirrolato y fumarato de formoterol (PT003), maleato de indacaterol (QVA149), olodaterol, tiotropio/olodaterol e inhalación de aclidinio/formoterol.

En el tratamiento de una infección por micobacterias (tuberculosis), un compuesto de cualquier fórmula que se describe en el presente documento se puede administrar combinado con un agente antimicobacteriano (tal como isoniazida (INH), etambutol, rifampicina y pirazinamida un antibiótico bactericida (tal como rifabutina o rifapentina, un aminoglicósido (capreomicina), una fluorquinolona (levofloxacino, moxifloxacino, ofloxacino), tioamida (etionamida), ciclosporina, ácido *para*-aminosalicílico, cicloserina, kanamicina, estreptomicina,

viomicina, capreomicina, fumarato de bedaquilina, oxazolidinona o delamanid (OPC-67683).

5 Específicamente, en el tratamiento de una infección por micobacterias (tuberculosis), un compuesto de la divulgación se puede administrar combinado con un agente antimicobacteriano (tal como isoniazida (INH), etambutol, rifampicina y pirazinamida un antibiótico bactericida (tal como rifabutina o rifapentina, un aminoglicósido (capreomicina), una fluorquinolona (levofloxacino, moxifloxicino, ofloxacino), tioamida (etionamida), cicloserina, kanamicina, estreptomina, viomicina, capreomicina, fumarato de bedaquilina, oxazolidinona o
10 delamanid (OPC-67683).

En el tratamiento de la esclerodermia generalizada, un compuesto de cualquier fórmula que se describe en el presente documento se puede administrar combinado con un corticosteroide oral (tal como prednisolona, un agente inmunosupresor (tal como metotrexato, ciclosporina, globulina antitimocítica, micofenolato de mofetilo, ciclofosfamida, FK506 (tacrólimus), talidomida, clorambucilo, azatioprina, un bloqueador de los canales de calcio (tal como nifedipino o nifedipino, un emoliente tópico (pomada de nitroglicerina), un inhibidor de ACE (tal como lisinopril), un inhibidor de la recaptación de serotonina (tal como fluoxetina), un inhibidor del receptor de endotelina- I (tal como bosentán
20 o epoprostenol), un agente antifibrótico (tal como colchicina, ácido *para*-aminobenzoico (PABA), sulfóxido de dimetilo (DMSO) y D-penicilamina, interferón alfa e interferón gamma (INF-g), un inhibidor de la bomba de protones (tal como omeprazol, metoclopramida, lansoprazol, esomeprazol, pantoprazol, rabeprazol o imatinib, ARG201 (arGentis Pharmaceutical), belimumab, tocilizumab.

25 Específicamente, en el tratamiento de la esclerodermia generalizada, un compuesto de cualquier fórmula que se describe en el presente documento se puede administrar combinado con un corticosteroide oral (tal como prednisolona), globulina antitimocítica, FK506 (tacrólimus), talidomida, clorambucilo, un bloqueador de los canales de calcio (tal como nifedipino o nifedipino), un
30 emoliente tópico (pomada de nitroglicerina), un inhibidor de ACE (tal como

lisinopril), diltiazem, un inhibidor de la recaptación de serotonina (tal como fluoxetina), un inhibidor del receptor de endotelina- I (tal como bosentán o epoprostenol), un agente antifibrótico (tal como colquicinas (Colcrys), ácido *para*-aminobenzoico (PABA), sulfóxido de dimetilo (DMSO) y D-penicilamina, interferón

5 alfa e interferón gamma (INF-g), un inhibidor de la bomba de protones (tal como omeprazol, metoclopramida, lansoprazol, esomeprazol, pantoprazol, rabeprazol o imatinib, ARG201 (arGentis Pharmaceutical) o tocilizumab.

En el tratamiento de la fibrosis quística, un compuesto de la divulgación se puede administrar combinado con un potenciador del regulador de la conductancia

10 transmembrana de la fibrosis quística (RTFQ) (ivacftor, un agente mucolítico (tal como dornasa alfa), enzimas pancreáticas (tales como Pancrelipasa), un broncodilatador (tal como albuterol), un antibiótico (que incluye inhalado, oral o parenteral, tal como solución de tobramicina para inhalación, inhalación de aztreonam, colistimetato sódico, cefalosporinas (cefadroxilo monohidratado,

15 cefazolina, cefalexina, cefazolina, fluoroquinolonas (moxifloxacino, levofloxacino, gemifloxacino, etc.), azitromicina, gentamicina, piperacilina/tazobacam, cefalexina, ceftazidima, ciprofloxacina, trimetoprim/sulfametoxazol o ivacftor/lumacaftor (VX-809), atalurén, o con bromuro de tiopropio como complemento de una terapia estándar.

20 En el tratamiento de la retinosis pigmentaria, un compuesto de la divulgación se puede administrar combinado con un factor de crecimiento neurotrófico ciliar (NT-501-CNTF) o agente de transferencia de genes, UshStat.

En el tratamiento de la degeneración macular, un compuesto de cualquier fórmula que se describe en el presente documento se puede administrar

25 combinado con inyecciones intravítreas oftálmicas (afibercept) o con un inhibidor anti-factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF, por sus siglas en inglés) (tal como ranibizumab o pegaptanib sódico, un agente de tipo factor de crecimiento neurotrófico ciliar (NT501), iSONEP o bevacizumab.

En el tratamiento de la gripe, un compuesto de la divulgación se puede

30 administrar combinado con una vacuna de la gripe inactivada trivalente (IIV3) (tal

como Afluria, Fluarix, Flucelvax, FluLaval, Fluvirina, Fluzona), vacuna de la gripe inactivada cuadrivalente (IIV4) (tal como Fluarix cuadrivalente, Flulaval cuadrivalente, Fluzona cuadrivalente), una vacuna de la gripe genotecnológica trivalente (tal como FluBlok), una vacuna de la gripe atenuada con virus vivos (tal como FluMist cuadrivalente), un agente antivírico (tal como oseltamivir, zanamivir, rimantadina o amantadina), o Fluad, Fludase, FluNhance, Preflucel o VaxiGrip.

En el tratamiento de una infección por estafilococos, un compuesto de cualquier fórmula que se describe en el presente documento se puede administrar combinado con un antibiótico (tal como a-Lactama cefalosporina, nafcilina, una sulfonamida (sulfametoxazol y trimetoprim, sulfasalazina, acetilsulfisoxazol) o vancomicina.

En el tratamiento del rechazo de trasplante, un compuesto de cualquier fórmula que se describe en el presente documento se puede administrar combinado con un corticoesteroide de dosis alta (tal como prednisona, metilprednisolona, un inhibidor de calcineurina (tal como ciclosporina), tacrólimus, un inhibidor de mTor (tal como sirólimus o everólimus, un agente antiproliferativo (tal como azatioprina, micofenolato de mofetilo o micofenolato sódico, un anticuerpo monoclonal (tal como muromonab-CD3, un antagonista del receptor de interleucina-2, daclizumab o rituximab, un anticuerpo policlonal anti-linfocitos T (tal como globulina gamma antitimocítica equina o globulina antitimocítica de conejo, un antagonista anti-CD40 (ASKP- 1240), un inhibidor de JAK (ASP015K) o un mAb murino anti-TCR (TOL101).

Específicamente, en el tratamiento del rechazo de trasplante, un compuesto de cualquier fórmula que se describe en el presente documento se puede administrar combinado con un anticuerpo monoclonal (tal como muromonab-CD3, un anticuerpo policlonal anti-linfocitos T (tal como globulina gamma antitimocítica equina o globulina antitimocítica de conejo, un antagonista anti-CD40 (ASKP- 1240), un inhibidor de JAK (ASP015K) o un mAb murino anti-TCR (TOL101).

En el tratamiento de la dermatitis atópica, un compuesto de cualquier fórmula que se describe en el presente documento se puede administrar

combinado con un inmunomodulador tópico o inhibidor de calcineurina (tal como pomada de pimecrólimus o tacrólimus, un corticoesteroide tópico (tal como hidrocortizona, betametasona, flurandrenolida, fluticasona, triamcinolona, fluocinonida y clobetasol, un corticoesteroide oral (tal como hidrocortisona, metilprednisolona o prednisolona, un inmunosupresor (tal como ciclosporina o interferón gamma (Alferón N, Infergén, Intrón A, Roferón-A®), un antihistamínico (para el prurito tal como Atarax, Vistaril, Benadrilo), un antibiótico (tal como los derivados de penicilina flucloxacilina o dicloxacilino, eritromicina, un agente inmunosupresor no esteroideo (tal como azatioprina), metotrexato, ciclosporina o micofenolato de mofetilo.

Específicamente, en el tratamiento de la dermatitis atópica, un compuesto de cualquier fórmula que se describe en el presente documento se puede administrar combinado con un inmunomodulador tópico o inhibidor de calcineurina (tal como pimecrólimus) o pomada de tacrólimus, un corticoesteroide tópico (tal como hidrocortizona, betametasona, flurandrenolida, fluticasona, triamcinolona, fluocinonida y clobetasol, un corticoesteroide oral (tal como hidrocortisona, metilprednisolona o prednisolona, un interferón gamma (Alferón N, Infergén, Intrón A, Roferón-A), un antihistamínico (para el prurito tal como Atarax, Vistaril, Benadrilo) o un antibiótico (tal como los derivados de penicilina flucloxacilina o dicloxacilino, eritromicina).

En el tratamiento de quemaduras, p. ej., una lesión por quemadura o coche por quemadura, un compuesto de cualquier fórmula que se describe en el presente documento se puede administrar solo o combinado con un agente antimicrobiano, normalmente un antibiótico tópico (crema de acetato de mafenida, crema de sulfadiazina de plata) y/o un analgésico (analgésicos opioides, p. ej., morfina, oxicodona). Otros agentes terapéuticos que pueden ser útiles para el tratamiento de quemaduras incluyen retinoides y pirlfenidona.

En determinadas realizaciones, el al menos otro agente terapéuticamente activo se selecciona de un agente trombolítico, un activador tisular del plasminógeno, un anticoagulante y un inhibidores de la agregación plaquetaria.

En determinadas realizaciones, el al menos otro agente terapéuticamente activo se selecciona de heparina, coumadina, clopidrogel, dipiridamol, ticlopidina HCL, eptifibatida y aspirina. En determinadas realizaciones, la enfermedad o trastorno mediado por la cinasa tratado con estos agentes es un accidente
5 cerebrovascular.

En determinadas realizaciones, el al menos otro agente terapéuticamente activo se selecciona de un antibiótico de amplio espectro, una terapia anti-SARM y un esteroide de dosis baja. En determinadas realizaciones, el al menos otro agente terapéuticamente activo se selecciona de vacomicina, cefepima, una
10 combinación de piperacilina y tazobactam, imipenem, meropenem, doripenem, ciprofloxacino, levofloxacino, ofloxacino, moxifloxacino e hidrocortisona. En determinadas realizaciones, la enfermedad o trastorno tratado con estos agentes es el síndrome inflamatorio de respuesta sistémica.

En determinadas realizaciones, el al menos otro agente terapéuticamente activo es alicaforsén o remestemcel-L. En determinadas realizaciones, la
15 enfermedad o trastorno tratado con estos agentes es la enfermedad de Crohn o la colitis ulcerosa.

En determinadas realizaciones, el al menos otro agente terapéuticamente activo es ixekizumab o tildrakizumab. En determinadas realizaciones, la
20 enfermedad o trastorno mediado por la cinasa tratado con estos agentes es de dermatopatías inflamatorias no contagiosas (DInc) tales como psoriasis o dermatitis atópica.

En determinadas realizaciones, el al menos otro agente terapéuticamente activo es un agente antimicrobiano o un antibiótico. En determinadas
25 realizaciones, el al menos otro agente terapéuticamente activo se selecciona de clorhexidina, doxiciclina y minociclina. En determinadas realizaciones, la enfermedad o trastorno tratado con estos agentes es la periodonitis.

En determinadas realizaciones, el al menos otro agente terapéuticamente activo se selecciona de un corticoesteroide inhalado, un agonista beta de acción
30 prolongada, una combinación de un corticoesteroide inhalado y un agonista beta

de acción prolongada, un agonista beta de acción corta, un modificador de leucotrienos, un anti-IgE, un broncodilatador metilxantínico, un inhibidor de mastocitos y un antagonista muscarínico de acción prolongada. En determinadas realizaciones, el al menos otro agente terapéuticamente activo se selecciona de

5 propionato de fluticasona, dipropionato de beclometasona, budesonide, acetónido de trimcinolona, flunisolida, fuorato de mometasona o ciclesónida, fumarato de formoterol, xinafoato de salmeterol, una combinación de furoato de fluticasona y vilanterol, una combinación de formoterol e inhalación de budesónida, una combinación de dipropionato de beclometasona y formoterol, una combinación de

10 propionato de fluticasona y salmeterol, sulfato de albuterol, tartrato de levalbuterol, una combinación de bromuro de ipratropio y albuterol, bromuro de ipratropio, montelukast sódico, zafirlukast, zileutón, omalizumab teofilina, cromolín sódico, nedocromilo sódico, y una combinación de furoato de mometasona y fumarato de formoterol dihidratado.

15 En determinadas realizaciones, el al menos otro agente terapéuticamente activo se selecciona de un inhibidor de cinasa de tirosinas proteínicas, un antagonista del receptor de prostanoïdes CRTH2/D, un aerosol de inhalación de epinefrina, y una combinación de un inhibidor de fosfodiesterasa-3 y un inhibidor de fosfodiesterasa-4. En determinadas realizaciones, el al menos otro agente

20 terapéuticamente activo se selecciona de masitinib, AMG 853, indacaterol, E004, una combinación de furoato de fluticasona y propionato de fluticasona, una combinación de furoato de fluticasona y vinanterol, una combinación de propionato de fluticasona y fumarato de eformoterol dihidratado, reslizumab, salbutamol, bromuro de tiotropio, una combinación de formoterol y budesónida, furoato de

25 fluticasona, VR506, lebrikizumab y RPL554. En determinadas realizaciones, la enfermedad o trastorno mediado por la cinasa tratado con estos agentes es el asma.

En determinadas realizaciones, el al menos otro agente terapéuticamente activo se selecciona de un agonista beta de acción prolongada, un antagonista

30 muscarínico o anticolinérgico inhalado de acción prolongada, un inhibidor de

fosfodiesterasa, una combinación de un corticoesteroide inhalado y un agonista beta de acción prolongada, un agonista beta de acción corta y un corticoesteroide inhalado. En determinadas realizaciones, el al menos otro agente terapéuticamente activo se selecciona de xinafoato de salmeterol, una

5 combinación de umeclidinio y vilanterol, umeclidinio, tartrato de arformoterol, fumarato de formoterol, maleato de indacaterol, una combinación de propionato de fluticasona y fumarato de eformoterol dihidratado, bromuro de tiotropio, bromuro de aclidinio, roflumilast, una combinación de furoato de fluticasona y vilanterol, una combinación de propionato de fluticasona y salmeterol, una combinación de

10 budesónida y formoterol, una combinación de mometasona y formoterol, una combinación de bromuro de ipratropio y sulfato de albuterol, una combinación de albuterol e ipratropio, bromuro de ipratropio, sulfato de albuterol, budesónida, propionato de fluticasona y dipropionato de beclometasona. En determinadas realizaciones, el al menos otro agente terapéuticamente activo se selecciona de

15 SCH527123, bromuro de glicopirronio, una combinación de bromuro de glicopirronio y maleato de indacaterol, una combinación de glicopirrolato y fumarato de formoterol, maleato de indacaterol, olodaterol, tiotropio, olodaterol, y una combinación de aclidinio y formoterol. En determinadas realizaciones, la enfermedad o trastorno tratado con estos agentes es EPOC.

20 En determinadas realizaciones, el al menos otro agente terapéuticamente activo es un agente antimicobacteriano o un antibiótico bactericida. En determinadas realizaciones, el al menos otro agente terapéuticamente activo se selecciona de isoniazida, etambutol, rifampina, pirazinamida, rifabutina, rifapentina, capreomicina, levofloxacino, moxifloxacino, ofloxacino, etionamida,

25 cicloserina, kanamicina, estreptomicina, viomicina, fumarato de bedaquilina, PNU-100480 y delamanid. En determinadas realizaciones, la enfermedad o trastorno mediado por la cinasa tratado con estos agentes es una infección por micobacterias.

En determinadas realizaciones, el al menos otro agente terapéuticamente

30 activo se selecciona de un corticoesteroide oral, globulina antitimocítica,

talidomida, clorambucilo, un bloqueador de los canales de calcio, un emoliente tópico, un inhibidor de ACE, un inhibidor de la recaptación de serotonina, un inhibidor del receptor de endotelina-I, un agente antifibrótico, un inhibidor de la bomba de protones o imatinib, ARG201 y tocilizumab. En determinadas

5 realizaciones, el al menos otro agente activo se selecciona de prednisolona, globulina antitimocítica, FK506 (tacrólimus), talidomida, clorambucilo, nifedipino, nicardipino, pomada de nitroglicerina, lisinopril, diltiazem, fluoxetina, bosentán, epoprostenol, colquicinas, ácido *para*- aminobenzoico, sulfóxido de dimetilo, D-penicilamina, interferón alfa, interferón gamma (INF-g), omeprazol,

10 metoclopramida, lansoprazol, esomeprazol, pantoprazol, rabeprazol, imatinib, ARG201 y tocilizumab. En determinadas realizaciones, la enfermedad o trastorno tratado con estos agentes es la esclerodermia generalizada.

En determinadas realizaciones, el al menos otro agente terapéuticamente activo se selecciona de un potenciador del regulador de la conductancia

15 transmembrana de la fibrosis quística, un agente mucolítico, enzimas pancreáticas, un broncodilatador, un antibiótico, o ivacftor/lumacaftor, atalureno y bromuro de tiotropio. En determinadas realizaciones, el al menos otro agente terapéuticamente activo se selecciona de ivacaftor, dornasa alfa, pancrelipasa, albuterol, tobramicina, aztreonam, colistimetato sódico, cefadroxilo monohidratado,

20 cefazolina, cefalexina, cefazolina, moxifloxacino, levofloxacino, gemifloxacino, azitromicina, gentamicina, piperacilina/tazobacam, ceftazidima, ciprofloxacino, trimetoprim/sulfametoxazol, cloramfenicol, o ivacaftor/lumacaftor, atalureno y bromuro de tiotropio. En determinadas realizaciones, la enfermedad o trastorno tratado con estos agentes es la fibrosis quística.

25 En determinadas realizaciones, el al menos otro agente terapéuticamente activo es un factor de crecimiento neurotrófico ciliar o un agente de transferencia de genes. En determinadas realizaciones, el al menos otro agente terapéuticamente activo es NT-501-CNTF o un agente de transferencia del gen que codifica miosina VIIA (MY07A).

30 En determinadas realizaciones, la enfermedad o trastorno tratado con estos

agentes es la retinosis pigmentaria.

En determinadas realizaciones, el al menos otro agente terapéuticamente activo se selecciona de inyecciones intravítreas oftálmicas, un inhibidor del factor de crecimiento del endotelio vascular y un agente de tipo factor de crecimiento neurotrófico ciliar. En determinadas realizaciones, el al menos otro agente terapéuticamente activo se selecciona de afibercept, ranibizumab, pegaptanib sódico, NT501, sphingomab humanizado y bevacizumab. En determinadas realizaciones, la enfermedad o trastorno tratado con estos agentes es la degeneración macular.

En determinadas realizaciones, el al menos otro agente terapéuticamente activo se selecciona de una vacuna de la gripe inactivada trivalente (IIV3), una vacuna de la gripe inactivada cuadrivalente (IIV4), una vacuna de la gripe genotecnológica trivalente, una vacuna de la gripe atenuada con virus vivos cuadrivalente, un agente antivírico o vacuna de la gripe inactivada. En determinadas realizaciones, el al menos otro agente terapéuticamente activo se selecciona de oseltamivir, zanamivir, rimantadina o amantadina. En determinadas realizaciones, la enfermedad o trastorno mediado por la cinasa tratado con estos agentes es la gripe.

En determinadas realizaciones, el al menos otro agente terapéuticamente activo se selecciona de una beta-Lactama, nafcilina, sulfametoxazolem, trimetoprim, sulfasalazina, acetilsulfisoxazol y vancomicina. En determinadas realizaciones, la enfermedad o trastorno tratado con estos agentes es una infección por estafilococos.

En determinadas realizaciones, el al menos otro agente terapéuticamente activo se selecciona de un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo policlonal anti-linfocitos T, un anticuerpo equino de globulina antitimocítica, un anticuerpo de conejo de globulina antitimocítica, un antagonista anti-CD40, un inhibidor de JAK y un mAb murino anti-TCR.

En determinadas realizaciones, el al menos otro agente terapéuticamente activo se selecciona de muromonab-CD3, ASKP-1240, ASP015K y TOL101. En

determinadas realizaciones, la enfermedad o trastorno tratado con estos agentes es el rechazo de trasplante.

En determinadas realizaciones, el al menos otro agente terapéuticamente activo se selecciona de un inmunomodulador tópico o inhibidor de calcineurina, un corticosteroide tópico, un corticosteroide oral, un interferón gamma, un antihistamínico o un antibiótico. En determinadas realizaciones, el al menos otro agente terapéuticamente activo se selecciona de pimecrólimus, tacrólimus, hidrocortizona, betametasona, flurandrenolida, fluticasona, triamcinolona, fluocinonida, clobetasol, hidrocortisona, metilprednisolona, prednisolona, una proteína de interferón alfa, un interferón de tipo I sintético recombinante, interferón alfa-2a, interferón alfa-2b, hidroxizina, difenhidramina, flucloxacilina, dicloxacilina y eritromicina. En determinadas realizaciones, la enfermedad o trastorno tratado con estos agentes es la dermatitis atópica.

Dosificación

Las expresiones “administración parenteral” y “administrado por vía parenteral”, como se utilizan en el presente documento, significan modos de administración distintos de la administración entérica y tópica, habitualmente por inyección e incluyen, sin limitación, inyección e infusión intravenosa, intramuscular, intraarterial, intratecal, intracapsular, intraorbitaria, intracardiaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal, subcutánea, subepidérmica, intraarticular, subcapsular, subaracnoidea, intrarraquídea e intraesternal.

Las expresiones “administración sistémica”, “administrado por vía sistémica”, “administración periférica” y “administrado por vía periférica”, como se utilizan en el presente documento, significan la administración de un compuesto, fármaco u otro material que no sea directamente en el sistema nervioso central, de modo que entre en el sistema del sujeto y, por tanto, esté sometido al metabolismo y otros procesos similares, por ejemplo, la administración subcutánea. Estos compuestos se pueden administrar a los seres humanos y otros animales para la terapia por cualquier vía de administración adecuada, que incluye por vía oral, nasal, como mediante, por ejemplo, un spray, por vía rectal, intravaginal,

parenteral, suboccipital y tópica, como mediante polvos, pomadas o gotas, que incluye por vía yugal y sublingual.

Independientemente de la vía de administración seleccionada, los compuestos de la presente divulgación, que se pueden utilizar en una forma
5 hidratada adecuada, y/o las composiciones farmacéuticas de la presente divulgación se formulan como formas farmacéuticas farmacéuticamente aceptables mediante métodos convencionales conocidos por los expertos en la técnica.

Los niveles de dosificación concretos de los compuestos activos en las
10 composiciones farmacéuticas de esta divulgación pueden variar para obtener una cantidad del compuesto activo que sea eficaz para conseguir la respuesta terapéutica deseada para un sujeto, una composición y un modo de administración particulares, sin que sea tóxica al sujeto.

El intervalo de dosificación seleccionado dependerá de diversidad de
15 factores que incluyen la actividad del compuesto particular de la presente divulgación empleado o el éster, sal o amida de este, la vía de administración, el momento de administración, la velocidad de excreción o metabolismo del compuesto particular que se esté empleando, la duración del tratamiento, otros fármacos, compuestos y/o materiales utilizados en combinación con el compuesto
20 particular empleado, la edad, el sexo, el peso, el estado, la salud general y los antecedentes médicos anteriores del sujeto que se esté tratando, y factores similares muy conocidos en las técnicas médicas. Se puede utilizar una dosificación diaria, semanal o mensual (u otro intervalo de tiempo).

Un médico o veterinario que sea experto en la técnica puede determinar y
25 prescribir fácilmente la cantidad eficaz de la composición farmacéutica requerida. Por ejemplo, el médico o veterinario podría comenzar con dosis de los compuestos de la divulgación empleados en la composición farmacéutica en niveles inferiores a los requeridos para conseguir el efecto terapéutico deseado y después incrementar gradualmente la dosificación hasta conseguir el efecto
30 deseado.

En general, una dosis diaria adecuada de un compuesto de la divulgación será la cantidad del compuesto que sea la dosis eficaz más baja para producir un efecto terapéutico (p. ej., inhibir la necrosis). Una dosis eficaz de este tipo dependerá generalmente de los factores descritos anteriormente.

5 Por lo general, las dosis de los compuestos de esta divulgación para un sujeto, cuando se utilizan para los efectos indicados, variarán de aproximadamente 0.0001 a aproximadamente 100 mg por kg de peso corporal al día. Preferentemente, la dosificación diaria variará de 0.001 a 50 mg de compuesto por kg de peso corporal e, incluso más preferentemente, de 0.01 a 10
10 mg de compuesto por kg de peso corporal.

Si se desea, la dosis diaria eficaz del compuesto activo se puede administrar como dos, tres, cuatro, cinco, seis o más subdosis administradas por separado en intervalos apropiados a lo largo del día, opcionalmente, en formas farmacéuticas unitarias. En determinadas realizaciones, la presente divulgación se
15 refiere a compuestos para inhibir la muerte celular, en donde los compuestos se representan mediante las estructuras (I). En determinadas realizaciones, los compuestos de la presente divulgación son inhibidores de la muerte celular. En cualquier caso, los compuestos de la presente divulgación ejercen
20 preferentemente su efecto sobre la inhibición de la muerte celular en una concentración inferior a aproximadamente 50 micromolar, más preferentemente en una concentración inferior a aproximadamente 10 micromolar y con la mayor preferencia en una concentración inferior a 1 micromolar. Los compuestos de la divulgación se pueden evaluar en modelos estándar en animales de accidente cerebrovascular y protocolos estándar tales como los descritos en Hara, H., *et al.*
25 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997.94(5): 2007-12.

Cuando los compuestos de la presente divulgación se administran como agentes farmacéuticos, a seres humanos y animales, se pueden suministrar por sí solos o como una composición farmacéutica que contiene, por ejemplo, de un 0.1 % a un 99.5 % (más preferentemente, de un 0.5 % a un 90 %) de compuesto
30 activo combinado con un portador farmacéuticamente aceptable.

Los compuestos de la presente solicitud o las composiciones de estos se pueden administrar una vez, dos veces, tres veces o cuatro veces al día, utilizando cualquier modo descrito anteriormente adecuado. Además, la administración o el tratamiento con los compuestos puede continuar durante varios días; por ejemplo, de forma habitual el tratamiento continuaría durante al menos 7 días, 14 días o 28 días, para un ciclo de tratamiento. Los ciclos de tratamiento están muy establecidos y frecuentemente se alternan con periodos de reposo de aproximadamente 1 a 28 días, de forma habitual aproximadamente 7 días o aproximadamente 14 días, entre ciclos. Los ciclos de tratamiento, en determinadas realizaciones, también pueden ser continuos.

Cuando se administra por vía oral, la dosificación diaria total para un sujeto humano puede ser de entre 1 mg y 1000 mg, entre aproximadamente 1000-2000 mg/día, entre aproximadamente 10-500 mg/día, entre aproximadamente 50-300 mg/día, entre aproximadamente 75-200 mg/día o entre aproximadamente 100-150 mg/día.

La dosificación diaria también se puede describir como una cantidad total de un compuesto de la divulgación administrada por dosis o al día. La dosificación diaria de un compuesto puede ser de entre aproximadamente 1 mg y 4000 mg, entre aproximadamente 2000 a 4000 mg/día, entre aproximadamente 1 a 2000 mg/día, entre aproximadamente 1 a 1000 mg/día, entre aproximadamente 10 a 500 mg/día, entre aproximadamente 20 a 500 mg/día, entre aproximadamente 50 a 300 mg/día, entre aproximadamente 75 a 200 mg/día o entre aproximadamente 15 a 150 mg/día. En determinadas realizaciones, el método comprende administrar al sujeto una dosis diaria inicial de aproximadamente 1 a 800 mg de un compuesto de la divulgación e incrementar la dosis en incrementos hasta que se consiga la eficacia clínica. Se pueden utilizar incrementos de aproximadamente 5, 10, 25, 50 o 100 mg para incrementar la dosis. La dosificación se puede incrementar a diario, cada dos días, dos veces por semana o una vez por semana.

En determinadas realizaciones, se administra un compuesto o preparado farmacéutico por vía oral. En determinadas realizaciones, el compuesto o

preparado farmacéutico se administra por vía intravenosa. Las vías alternativas de administración incluyen las administraciones sublingual, intramuscular y transdérmica.

Los preparados de la presente divulgación se pueden suministrar por vía oral, parenteral, tópica o rectal. Se suministran, por supuesto, en formas adecuadas para cada vía de administración. Por ejemplo, se administran en comprimidos o en forma de cápsula, mediante inyección, inhalación, loción ocular, pomada, supositorio, etc., administración mediante inyección, infusión o inhalación; tópica mediante loción o pomada; y rectal mediante supositorios. En determinadas realizaciones, la administración es oral.

Ejemplos

Abreviaturas:

15	ADP	Difosfato de adenosina
	ATP	Trifosfato de adenosina
	BOC	<i>tert</i> -Butiloxycarbonilo
	CMC	Carboximetilcelulosa
	CCR	Curva de concentración-respuesta
20	DCM	Diclorometano
	DEA	Dietilamina
	DIAD	Azodicarboxilato de diisopropilo
	DIPEA	Diisopropiletilamina
	DME	Dimetoxietano
25	DMF	Dimetilformamida
	DMSO	Sulfóxido de dimetilo
	Eq.	equivalente
	ES	Electronebulización
	EtOH	etanol
30	FBS	Suero fetal bovino

5	HATU	Hexafluorofosfato de 3-óxido de 1-[bis(dimetilamino)metilen]-1 <i>H</i> -1,2,3-triazolo[4,5- <i>b</i>]piridinio
	HBTU	Hexafluorofosfato de 2-(1 <i>H</i> -benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio
	HOBt	1-Hidroxibenzotriazol
	HPLC	Cromatografía de líquidos de alta presión
10	h	Hora(s)
	i-PrOH	Alcohol isopropílico
	IL6	Interleucina 6
15	LC/MS	Cromatografía de líquidos/espectrometría de masas
	m/z	Masa por carga
	MeOH	metanol
	MHz	Megahercios
20	min	Minuto(s)
	N	Normalidad
	<i>n</i> -BuOH	<i>n</i> -Butanol
	RMN	Resonancia magnética nuclear
25	PBS	Solución salina tamponada con fosfato
	PG	Grupo protector
	Hr	Humedad relativa
	TBHP	Hidroperóxido de <i>tert</i> -butilo
30	TFA	Ácido trifluoroacético
	THF	Tetrahidrofurano
	TNF	Factor de necrosis tumoral
	tR	tiempo de retención

UV	ultravioleta
----	--------------

Cromatografía en gel de sílice

La cromatografía en gel de sílice se llevó a cabo utilizando CombiFlash® Rf (Teledyne ISCO), un sistema de purificación ultrarrápida automatizada Isolera One de Biotage o dos sistemas Büchi (combinación de C-660, C-605, C-620, C-635 y combinación de C-660, C-605, C-615, C-630) con cartuchos preempacados.

HPLC de fase inversa preparativa

Para la HPLC de fase inversa preparativa se utilizó un instrumento de HPLC preparativa Agilent 1200, un equipo Gilson (manipulador de líquidos GX-271, bomba 331/332, UV/VIS-155) o un sistema de LC prep. para autopurificación de Waters.

RP-LC preparativa

La cromatografía de líquidos de fase inversa se realizó con un equipo de Biotage utilizando columnas C18 y un gradiente de agua (0.1 % de ácido fórmico)/acetonitrilo.

RMN

400 MHz: Los espectros de RMN se registraron en un espectrómetro AVANCE II 400 de Bruker que operaba a una frecuencia de protones de 400.23 MHz. El instrumento se dotó de un cabezal de sonda a temperatura ambiente con BBI de 5 mm. Como alternativa, se utilizó un AVANCE III HD 400 MHz de Bruker o un AVANCE NEO 400 MHz de Bruker.

600 MHz: Los espectros de RMN se registraron en un espectrómetro AVANCE III 600 de Bruker que operaba a una frecuencia de protones de 600.05 MHz. El instrumento se dotó de un cabezal de sonda a temperatura ambiente con BBI de 5 mm. Equipo de LC/MS analítica para el método A

Equipo de LC/MS analítica para el método A

La detección de la masa y el tiempo de retención se llevó a cabo en un sistema de UHPLC Acquity de Waters acoplado con un detector de masas SQD de Waters. El volumen de inyección fue de 1.0 µl. Los pesos moleculares se

proporcionan en gramos por mol [g/mol], las masas detectadas en masa por carga [m/z].

Equipo de LC/MS analítica para los métodos B, C, D

- 5 Para la detección de la masa y el tiempo de retención, se utilizó un sistema de LC/MS de Agilent (LC/MS con LC de la serie 1200/ MS de cuadrupolo 6120, LC/MS con LC 1260 infinity/MS de cuadrupolo 6120 o LC 1260 Infinity II/MSD Infinity Lab). Los pesos moleculares se proporcionan en gramos por mol [g/mol], las masas detectadas en masa por carga [m/z].

LC/MS-método A

- 10 Gradiente: un 98 % de H₂O (0.05 % de ácido fórmico)/2 % de acetonitrilo (0.035 % de ácido fórmico) durante 0.2 min, a continuación de un 98 % de H₂O (0.05 % de ácido fórmico) a un 98 % de acetonitrilo (0.035 % de ácido fórmico) en 3.6 min, a continuación un 98 % de acetonitrilo (0.035 % de ácido fórmico) durante 0.5 min, flujo: 1.0 ml/min, columna: ACQUITY UPLC BEH C18 de 2.1×50 mm de Waters, 1.7 µm, 55 °C.

Datos de UV: tiempo de retención a $\lambda = 220$ nm proporcionado en min

Datos de MS: ionización por ES⁺, m/z proporcionada como [M+H]⁺ a menos que se indique otra cosa

LC/MS-método B

- 20 Gradiente: de un 93 % de H₂O (0.05 % de TFA)/7 % de acetonitrilo a un 95 % de acetonitrilo en 1.0 min, a continuación un 95 % de acetonitrilo durante 0.45 min, flujo: 1.1 ml/min, columna: LunaC18 de 2.0×10 mm, 3 µm, 30 °C, volumen de inyección de 0.2 µl

Datos de UV: tiempo de retención a λ 220 nm proporcionado en min

- 25 Datos de MS: ionización por ES⁺, m/z proporcionada como [M+H]⁺ a menos que se indique otra cosa

LC/MS-método C

- 30 Gradiente: de un 95 % de H₂O (0.0375 % de TFA)/5 % de acetonitrilo (0.01875 % de TFA) a un 5 % de H₂O (0.0375 % de TFA)/95 % de acetonitrilo (0.01875 % de TFA) en 0.8 min; flujo: 1.5 ml/min, columna: Kinetex EVO C18 de

2.1×30 mm, 5 µm, 50 °C

Datos de UV: tiempo de retención a λ 220 nm proporcionado en min

Datos de MS: ionización por ES⁺, m/z proporcionada como [M+H]⁺ a menos que se indique otra cosa

5 LC/MS-método D

Gradiente: de un 100 % de H₂O (0.0375 % de TFA)/0 % de acetonitrilo (0.01875 % de TFA) a un 40 % de H₂O (0.0375 % de TFA)/60 % de acetonitrilo (0.01875 % de TFA) en 0.8 min, a continuación un 40 % de H₂O (0.0375 % de TFA)/60 % de acetonitrilo (0.01875 % de TFA) durante 0.4 min; flujo: 1.5 ml/min,

10 columna: Kinetex EVO C18 de 2.1×30 mm, 5 µm, 50 °C

Datos de UV: tiempo de retención a λ 220 nm proporcionado en min

Datos de MS: ionización por ES⁺, m/z proporcionada como [M+H]⁺ a menos que se indique otra cosa

HPLC quiral analítica

15 SFC: sistema SHIMADZU LC-30AD sf

LC: sistema Agilent de la serie 1100

Sales

En los compuestos descritos como sal de HCl, TFA o como otra sal, normalmente la cantidad exacta de la sal respectiva no se determina. Por

20 consiguiente, la cantidad de la sal puede estar comprendida en el intervalo de tan solo 0.01 eq. hasta como máximo 5.0 eq. dependiendo de la estructura química (p. ej., el número de centros básicos).

Pureza quiral

25 Los compuestos se dibujan y nombran como un solo enantiómero si la relación enantiomérica está por encima de 90:10. Para relaciones enantioméricas por debajo de 90:10, se utiliza la forma racémica.

Métodos de síntesis:

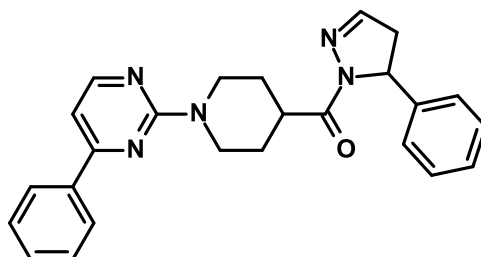
Síntesis de los compuestos de comparación:

Ejemplo de comparación A (documento WO2018 092089 de GSK, Ejemplo

30 4):

(3-Fenil-3,4-dihidropirazol-2-il)-[1-(4-fenilpirimidin-2-il)-4-piperidil]metanona

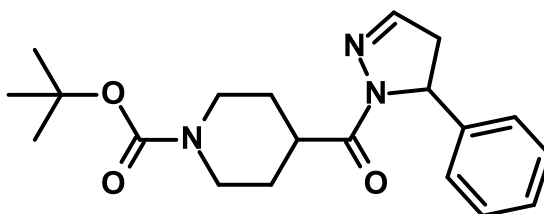
5



Paso 1:

4-(3-fenil-3,4-dihidropirazol-2-carbonil)piperidin-1-carboxilato de *tert*-butilo

10



15

A una mezcla de 5-fenil-4,5-dihidro-1*H*-pirazol (500 mg, 3.42 mmol, 1.0 eq.), ácido 1-(*tert*-butoxicarbonil)piperidin-4-carboxílico (862.58 mg, 0.74 ml, 3.76 mmol, 1.1 eq.) y HATU (1950.7 mg, 5.13 mmol, 1.5 eq.) en DMF (5 ml, 64.6 mmol) se añadió DIPEA (1105.1 mg, 1.49 ml, 8.5 mmol, 2.5 eq.), y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla de reacción se evaporó a presión reducida, se diluyó en acetato de etilo, y se lavó con solución acuosa de HCl 0.1 N y agua. La capa orgánica se secó con Na₂SO₄, se filtró, se evaporó y se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (40 g de SiO₂, eluyente: heptano y acetato de etilo, gradiente: de un 0 % a un 50 % de acetato de etilo, flujo: 40 ml/min) para obtener el compuesto del título (1.22 g, 94 % de rendimiento).

20

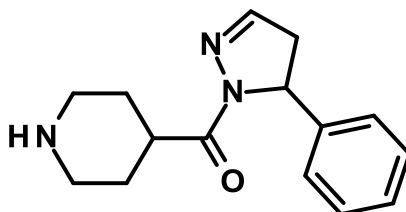
LC/MS: $m/z = [M-56+H]^+$; tR: 0.89 min (LC/MS-método B).

25

Paso 2:

(3-Fenil-3,4-dihidropirazol-2-il)-(4-piperidil)metanona

30



5

Una solución de 4-(3-fenil-3,4-dihidropirazol-2-carbonil)piperidin-1-carboxilato de *tert*-butilo (1.145 g, 3.204 mmol, 1.0 eq.), DCM (25 mg, 0.2944 mmol, 0.1 eq.) y TFA (3.653 g, 2.47 ml, 32.04 mmol, 10.00 eq.) se agitó a temperatura ambiente durante 24 h. La mezcla de reacción se diluyó con tolueno (10 ml) y se evaporó. El producto bruto se diluyó con agua y acetonitrilo, y se liofilizó. El material bruto se diluyó con solución saturada de NaHCO₃ y se extrajo con DCM dos veces. La capa orgánica combinada se secó con Na₂SO₄, se filtró y se evaporó para obtener el compuesto del título (824 mg, 76 % de rendimiento).

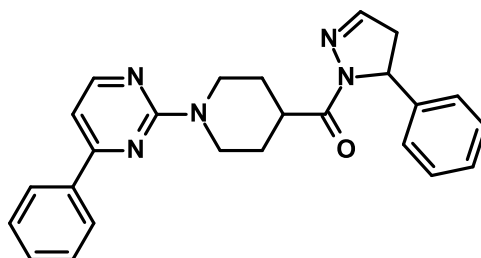
LC/MS: m/z = 258.1 [M+H]⁺; tR: 0.87 min (LC/MS-método A).

¹H RMN (400.23 MHz, DMSO-d₆): δ ppm 7.27 (m, 4 H), 7.10 (m, 2 H), 5.29 (dd, J=11.92, 4.58 Hz, 1 H), 3.48 (m, 1 H), 3.23 (m, 1 H), 3.10 (m, 1 H), 3.00 (m, 1 H), 2.69 (m, 2 H), 1.91 (m, 1 H), 1.81 (m, 1 H), 1.47-1.75 (m, 4 H)

Paso 3:

(3-Fenil-3,4-dihidropirazol-2-il)-[1-(4-fenilpirimidin-2-il)-4-piperidil]metanona

20



25

A una solución de (3-fenil-3,4-dihidropirazol-2-il)-(4-piperidil)metanona (77.2 mg, 0.300 mmol, 1.00 eq.) y 2-cloro-4-fenilpirimidina (62.9 mg, 0.330 mmol, 1.10 eq.) en acetonitrilo (4 ml) se añadió DIPEA (96.9 mg, 0.131 ml, 0.750 mmol, 2.50 eq.). La mezcla de reacción se calentó hasta 100 °C con irradiación de microondas durante 30 minutos. Se añadió DIPEA (96.9 mg, 0.131 ml, 0.750 mmol, 2.50 eq.)

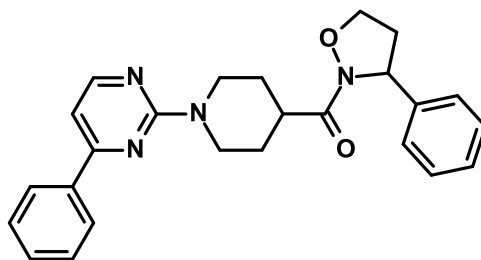
30

de nuevo y la mezcla de reacción se calentó hasta 100 °C con irradiación de microondas durante 30 minutos. Tras la adición de una cantidad catalítica de K₂CO₃ y DMF (0.5 ml), la mezcla de reacción se calentó hasta 100 °C con irradiación de microondas durante 30 minutos. La mezcla de reacción se filtró, se lavó con acetonitrilo y el filtrado se evaporó a presión reducida. El residuo se purificó mediante HPLC preparativa (columna: Luna(r) 5 µm C18(2) 100 Å 100×30 mm, AXIAL; eluyente: agua y acetonitrilo; gradiente: de un 5 % a un 100 % de acetonitrilo en 20 minutos, flujo: 50 ml/min) para obtener el compuesto del título (55 mg, 45 % de rendimiento).

LC/MS: m/z = 412.2 [M+H]⁺; tR: 2.51 min (LC/MS-método A).

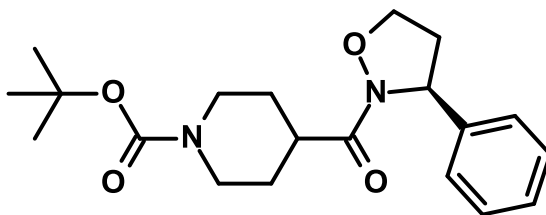
¹H RMN (400.23 MHz, DMSO-d₆): δ ppm 8.42 (d, J=5.14 Hz, 1 H), 8.11 (m, 2 H), 7.51 (m, 3 H), 7.31 (m, 2 H), 7.18 (m, 5 H), 5.31 (dd, J=11.86, 4.65 Hz, 1 H), 4.80 (br d, J=13.08 Hz, 2 H), 3.48 (m, 2 H), 3.05 (m, 2 H), 2.68 (m, 1 H), 1.92 (br d, J=11.00 Hz, 1 H), 1.80 (br d, J=11.49 Hz, 1 H), 1.51 (m, 2 H)

Ejemplo de comparación B (isoxazolidina del ejemplo de comparación A):
[(3S)-3-Fenilisoxazolidin-2-il]-[1-(4-fenilpirimidin-2-il)-4-piperidil]metanona



Paso 1:

4-[(3S)-3-Fenilisoxazolidin-2-carbonil]piperidin-1-carboxilato de *tert*-butilo



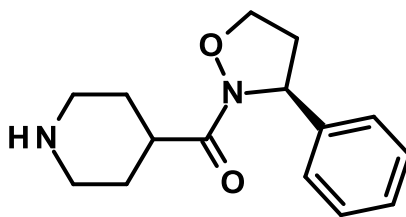
A una mezcla de (S)-3-fenilisoxazolidina (500 mg, 3.35 mmol), ácido 1-(*tert*-

butoxicarbonil)piperidin-4-carboxílico (922 mg, 4.02 mmol) y HATU (1.91 g, 5.03 mmol) en DMF (10 ml) se añadió DIPEA (1.46 ml, 8.38 mmol), y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla de reacción se diluyó con solución semisaturada de NH_4Cl y acetato de etilo, la capa orgánica se lavó con agua, se secó con Na_2SO_4 , se filtró, se evaporó y se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (40 g de SiO_2 , eluyente: DCM y DCM/metanol = 9/1, gradiente: de un 0 % a un 50 % de DCM/metanol = 9/1, flujo: 40 ml/min) para obtener el compuesto del título (920 mg, 76 % de rendimiento).

LC/MS: m/z = 381.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$; tR: 2.28 min (LC/MS-método A).

Paso 2:

[(3S)-3-Fenilisoxazolidin-2-il]-(4-piperidil)metanona



Una solución de 4-[(3S)-3-fenilisoxazolidin-2-carbonil]piperidin-1-carboxilato de *tert*-butilo

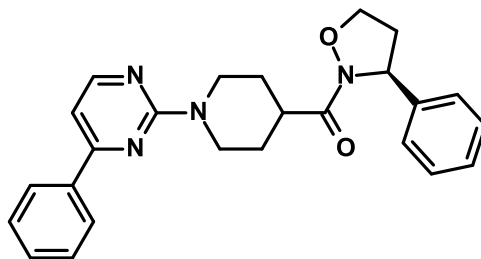
(920 mg, 2.55 mmol), DCM (20 ml) y TFA (2.9 g, 1.96 ml, 25.47 mmol) se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. La mezcla de reacción se diluyó con tolueno (5 ml), se evaporó y se liofilizó dos veces para obtener el compuesto del título (850 mg, 84 % de rendimiento).

LC/MS: m/z = 261.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$; tR: 0.90 min (LC/MS-método A).

^1H RMN (400.23 MHz, DMSO-d_6): δ ppm 8.50 (s a, 1 H), 8.24 (s a, 1 H), 7.34 (m, 2 H), 7.27 (m, 3 H), 5.31 (m, 1 H), 4.27 (td, $J=7.64$, 7.64, 3.06 Hz, 1 H), 3.91 (m, 1 H), 3.25 (m, 1 H), 2.93 (m, 3 H), 2.55 (m, 1 H), 2.20 (m, 1 H), 1.98 (t a, $J=9.66$, 9.66 Hz, 2 H), 1.80 (s a, 1 H), 1.71 (m, 2 H)

Paso 3:

[(3S)-3-Fenilisoxazolidin-2-il]-[1-(4-fenilpirimidin-2-il)-4-piperidil]metanona



5

A una solución de la sal trifluoroacética de [(3S)-3-fenilisoxazolidin-2-il]-(4-piperidil)metanona (116 mg, 0.300 mmol, 1.00 eq.) y 2-cloro-4-fenilpirimidina (62.9 mg, 0.330 mmol, 1.10 eq.) en acetonitrilo (4 ml) se añadió DIPEA (136 mg, 0.183 ml, 1.05 mmol, 3.50 eq.) y se calentó hasta 100 °C con irradiación de microondas durante 30 minutos. Se añadió DIPEA (96.9 mg, 0.131 ml, 0.750 mmol, 2.50 eq.) de nuevo y la mezcla de reacción se calentó hasta 100 °C con irradiación de microondas durante 30 minutos. Tras la adición de una cantidad catalítica de K₂CO₃ y DMF (0.5 ml), la mezcla de reacción se calentó hasta 100 °C con irradiación de microondas durante 30 minutos. La mezcla de reacción se filtró, se lavó con acetonitrilo y el filtrado se evaporó a presión reducida. El residuo se purificó mediante HPLC preparativa (columna: Luna(r) 5 µm C18(2) 100 Å 100×30 mm, AXIAL; eluyente: agua y acetonitrilo; gradiente: de un 5 % a un 100 % de acetonitrilo en 20 minutos, flujo: 50 ml/min) para obtener el compuesto del título (73 mg, 59 % de rendimiento).

20

LC/MS: m/z = 415.2 [M+H]⁺; tR: 2.58 min (LC/MS-método A).

¹H RMN (400.23 MHz, DMSO-d₆): δ ppm 8.43 (d, J=5.14 Hz, 1 H), 8.12 (m, 2 H), 7.51 (m, 3 H), 7.30 (m, 5 H), 7.18 (d, J=5.14 Hz, 1 H), 5.33 (t a, J=7.46, 7.46 Hz, 1 H), 4.78 (br dd, J=8.99, 3.97 Hz, 2 H), 4.29 (td, J=7.73, 7.73, 3.00 Hz, 1 H), 3.92 (m, 1 H), 3.08 (t a, J=11.43, 11.43 Hz, 3 H), 2.89 (m, 1 H), 2.20 (m, 1 H), 1.94 (br d, J=11.49 Hz, 1 H), 1.75 (s a, 1 H), 1.53 (m, 2 H)

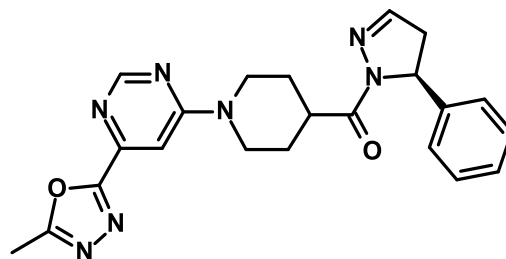
25

Ejemplo de comparación C (documento WO2018 092089 de GSK, Ejemplo 129):

[1-[6-(5-Metil-1,3,4-oxadiazol-2-il)pirimidin-4-il]-4-piperidil]-[(3S)-3-fenil-3,4-dihidropirazol-2-il]metanona

30

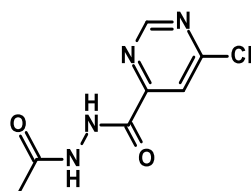
5



Paso 1

N'-Acetil-6-cloropirimidin-4-carbohidrazida

10



15

A una solución de ácido 6-cloropirimidin-4-carboxílico (500 mg, 3.00 mmol, 1.00 eq.) en THF (30 ml) se añadió DMF (4.38 mg, 4.6 μ l, 59.9 μ mol, 0.02 eq.) en atmósfera de argón y la mezcla de reacción se enfrió hasta 0 °C. Se añadió

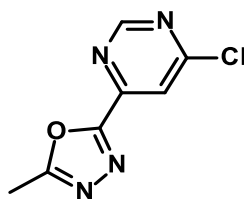
20

cloruro de oxalilo (2 M en DCM) (2.25 ml, 4.49 mmol, 1.5 eq.) gota a gota. Posteriormente, la reacción se dejó calentar hasta temperatura ambiente y se agitó durante 1 h. La mezcla se evaporó a presión reducida, el residuo se disolvió en 1,4-dioxano (30 ml) y se enfrió hasta 0 °C. Se añadió acetidrazida (444 mg, 5.99 mmol, 2.00 eq.), la mezcla de reacción se dejó calentar hasta temperatura ambiente y se agitó durante 1 h. La mezcla se evaporó a presión reducida y se utilizó en el siguiente paso sin purificación.

Paso 2:

2-(6-Cloropirimidin-4-il)-5-metil-1,3,4-oxadiazol

25



30

Una solución de *N'*-acetil-6-cloropirimidin-4-carbohidrazida (paso 1, bruto) en acetonitrilo (30 ml) se enfrió hasta 0 °C y se añadió DIPEA (774 mg, 1.04 ml,

5.99 mmol, 2.0 eq.) gota a gota. Se añadió cloruro de *p*-toluenosulfonilo (1.713 g, 8.99 mmol, 3.0 eq.), la mezcla de reacción se dejó calentar hasta temperatura ambiente y se agitó durante 20 minutos. La mezcla de reacción se evaporó a presión reducida y se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (80 g de SiO₂, eluyente: *n*-heptano y acetato de etilo, gradiente: de un 0 % a 100 % de acetato de etilo, flujo: 60 ml/min) para obtener el compuesto del título (83 mg, 14 % de rendimiento de ambos pasos). Se aisló el reactivo *N'*-acetil-6-cloro-pirimidin-4-carbohidrazida (355 mg, 55 % de rendimiento) sin reaccionar.

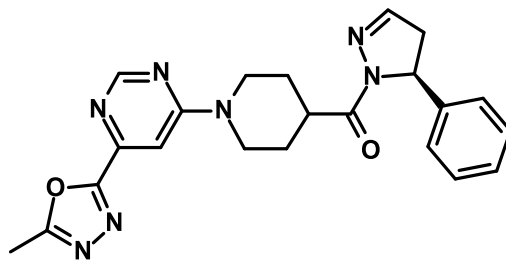
El reactivo reaislado se convirtió también en el compuesto del título como se ha descrito anteriormente para obtener 254 mg (79 % de rendimiento).

LC/MS: $m/z = 197 [M+H]^+$; t_R : 0.99 min (LC/MS-método A).

¹H RMN (400.23 MHz, DMSO-*d*₆): δ ppm 9.26 (d, $J=0.98$ Hz, 1 H), 8.33 (d, $J=0.98$ Hz, 1 H), 2.66 (s, 3 H)

Paso 3

[1-[6-(5-Metil-1,3,4-oxadiazol-2-il)pirimidin-4-il]-4-piperidil]-[(3*S*)-3-fenil-3,4-dihidropirazol-2-il]metanona



A una mezcla de (3-fenil-3,4-dihidropirazol-2-il)-(4-piperidil)metanona (Ejemplo de comparación A, paso 2, 154.4 mg, 0.600 mmol, 1.00 eq.) y 2-(6-cloropirimidin-4-il)-5-metil-1,3,4-oxadiazol (123.85 mg, 0.63 mmol, 1.05 eq.) en acetonitrilo (20 ml) se añadió DIPEA (193.86 mg, 0.261 ml, 1.5 mmol, 2.5 eq.). La mezcla de reacción se calentó hasta 100 °C con irradiación de microondas durante 30 minutos, se evaporó a presión reducida y se purificó mediante HPLC preparativa (columna: Luna(r) 5 μ m C18(2) 100 Å 100×30 mm, AXIAL; eluyente: agua y acetonitrilo; gradiente: de un 10 % a un 100 % de acetonitrilo en 12

minutos, flujo: 50 ml/min) para obtener el racemato del compuesto del título (153 mg, 61 % de rendimiento).

Los isómeros se separaron mediante HPLC quiral (columna: Chiralpak IB/83, 250x4.6 mm; eluyente: 2:1:1 de heptano:EtOH:MeOH; gradiente isocrático) para obtener el compuesto del título (67 mg, 27 % de rendimiento).

LC/MS: $m/z = 418.2$ $[M+H]^+$; tR: 1.68 min (LC/MS-método A).

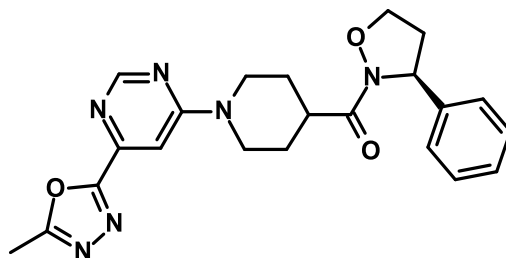
^1H RMN (400.23 MHz, DMSO- d_6): δ ppm 8.61 (d, $J=0.98$ Hz, 1 H), 7.42 (d, $J=0.98$ Hz, 1 H), 7.27 (m, 4 H), 7.11 (d, $J=7.49$ Hz, 2 H), 5.31 (dd, $J=11.86$, 4.65 Hz, 1 H), 4.49 (s a, 2 H), 3.48 (m, 2 H), 3.13 (m, 2 H), 2.68 (m, 1 H),

2.60

(s, 3 H), 1.94 (br d, $J=11.62$ Hz, 1 H), 1.82 (br d, $J=10.88$ Hz, 1 H), 1.51 (m, 2 H)

Ejemplo de comparación D (isoxazolidina del Ejemplo de comparación C):

[1-[6-(5-Metil-1,3,4-oxadiazol-2-il)pirimidin-4-il]-4-piperidil]-[(3S)-3-fenilisoxazolidin-2-il]metanona



20

A una solución de la sal trifluoroacética de [(3S)-3-fenilisoxazolidin-2-il]-(4-piperidil)metanona (Ejemplo de comparación B, paso 2, 116 mg, 0.300 mmol, 1.00 eq.) y 2-(6-cloropirimidin-4-il)-5-metil-1,3,4-oxadiazol (61.9 mg, 0.315 mmol, 1.05 eq.) en acetonitrilo (10 ml) se añadió DIPEA (136 mg, 0.183 ml, 1.05 mmol, 3.50 eq.). La mezcla de reacción se calentó hasta 100 °C con irradiación de microondas durante 30 minutos y se purificó mediante HPLC preparativa (columna: Luna(r) 5 μ m C18(2) 100 Å 100x30 mm, AXIAL; eluyente: agua y acetonitrilo; gradiente: de un 10 % a un 100 % de acetonitrilo en 12 minutos, flujo: 50 ml/min) para obtener el compuesto del título (89 mg, 71 % de rendimiento).

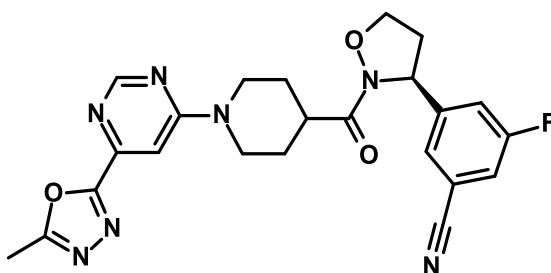
30

LC/MS: $m/z = 421.2$ $[M+H]^+$; tR: 1.75 min (LC/MS-método A).

^1H RMN (400.23 MHz, DMSO- d_6): δ ppm 8.62 (s, 1 H), 7.43 (s, 1 H), 7.30 (m, 5 H), 5.33 (m, 1 H), 4.47 (s a, 2 H), 4.28 (m, 1 H), 3.92 (m, 1 H), 3.19 (s a, 1 H), 3.14 (m, 2 H), 2.89 (m, 1 H), 2.61 (s, 3 H), 2.20 (m, 1 H), 1.96 (br d, $J=12.96$ Hz, 1 H), 1.77 (s a, 1 H), 1.54 (m, 2 H)

Ejemplo de comparación E (isoxazolidina con fenilo sustituido del Ejemplo de comparación C):

3-Fluoro-5-[(3S)-2-[1-[6-(5-metil-1,3,4-oxadiazol-2-il)]pirimidin-4-il]piperidin-4-carbonil]isoxazolidin-3-il]benzonitrilo



El ejemplo de comparación E se sintetizó de forma análoga al ejemplo de comparación D utilizando 3-fluoro-5-[(3S)-2-(piperidin-4-carbonil)isoxazolidin-3-il]benzonitrilo (sintetizado a partir del Intermedio-1 como se describe en el ejemplo de comparación B) en lugar de [(3S)-3-fenilisoxazolidin-2-il]-(4-piperidil)metanona y HBTU en lugar de HATU como reactivo de acoplamiento para obtener 14.8 mg (31.9 μ mol, 32 % de rendimiento).

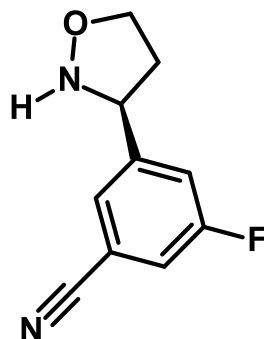
LC/MS: $m/z = 464.3$ $[M+H]^+$; tR: 1.77 min (LC/MS-método A).

^1H RMN (400.23 MHz, DMSO- d_6): δ ppm 8.62 (d, $J=0.86$ Hz, 1 H), 7.77 (d, $J=8.62$ Hz, 1 H), 7.62 (s, 1 H), 7.49 (br d, $J=9.66$ Hz, 1 H), 7.43 (s, 1 H), 5.40 (m, 1 H), 4.46 (m, 2 H), 4.30 (td, $J=7.70, 7.70, 2.93$ Hz, 1 H), 3.95 (m, 1 H), 3.14 (m, 3 H), 2.91 (m, 1 H), 2.61 (s, 3 H), 2.27 (m, 1 H), 1.99 (br d, $J=11.62$ Hz, 1 H), 1.80 (br d, $J=11.62$ Hz, 1 H), 1.54 (m, 2 H), 1.24 (s, 1 H)

Síntesis de los intermedios:

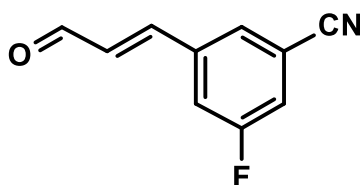
Intermedio-01

3-Fluoro-5-[(3S)-isoxazolidin-3-il]benzonitrilo



Paso 1

3-Fluoro-5-[(E)-3-oxoprop-1-enil]benzonitrilo



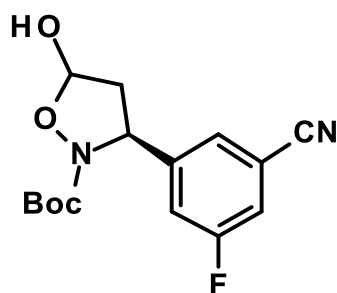
A una solución de 3-fluoro-5-formilbenzonitrilo (90 g, 603.53 mmol, 1 eq.) en THF (900 ml) se añadió 2-(trifenil-lambda5-fosfaniliden)acetaldehído (183.67 g, 603.53 mmol, 1 eq.). La mezcla se agitó a 70 °C durante 12 h y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (éter de petróleo/acetato de etilo = 1:0 ~ 3:1) para obtener el compuesto del título (72 g, 68 % de rendimiento) como un sólido amarillo.

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ ppm 9.76 (d, $J=7.3$ Hz, 1 H), 7.67 - 7.63 (m, 1 H), 7.52 (td, $J=1.8, 9.0$ Hz, 1 H), 7.46 - 7.39 (m, 2 H), 6.74 (dd, $J=7.4, 16.1$ Hz, 1 H)

Paso 2

(3S)-3-(3-Ciano-5-fluorofenil)-5-hidroxiisoxazolidin-2-carboxilato de *tert*-butilo

5



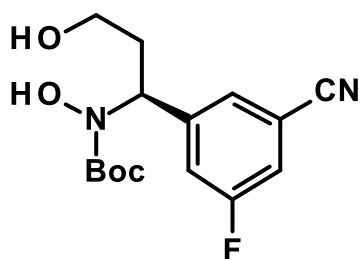
A una solución de [difeníl-[(2S)-pirrolidin-2-il]metoxi]trimetilsilano (26.02 g, 79.93 mmol, 0.2 eq.) en CHCl_3 (300 ml) se añadió 3-fluoro-5-[(E)-3-oxoprop-1-enil]benzonitrilo (70 g, 399.64 mmol, 1 eq.) a 0 °C, la mezcla se agitó a 0 °C durante 0.5 h y se añadió N-hidroxycarbamato de *tert*-butilo (58.53 g, 439.60 mmol, 1.1 eq.). La mezcla se calentó hasta 20 °C suavemente y se agitó durante 12 h. El residuo se purificó mediante HPLC de fase inversa preparativa (columna: Phenomenex luna C18, 15 μm , 100 Å, D.I. 150×H400 mm, eluyente: agua (0.1 % de ácido fórmico) y acetonitrilo, gradiente: de un 60 % a un 47 % de acetonitrilo en 53 min y un 47 % de acetonitrilo durante 32 min, flujo: 600 ml/min) para obtener el compuesto del título (77.5 g, 63 % de rendimiento) como un sólido amarillo.

LC/MS: m/z = 191.1 $[\text{M}-100-18+\text{H}]^+$; t_R : 0.900 min (LC/MS-método C).
 ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ ppm 7.46 (s, 1 H), 7.34 (td, $J=1.7, 9.2$ Hz, 1 H), 7.31 - 7.28 (m, 1 H), 5.90 (d, $J=4.4$ Hz, 1 H), 5.34 (t, $J=8.3$ Hz, 1 H), 2.83 (dd, $J=8.5, 12.5$ Hz, 1 H), 2.21 (ddd, $J=4.4, 8.1, 12.5$ Hz, 1 H), 1.51 - 1.41 (m, 9 H)

Paso 3

N-[(1S)-1-(3-Ciano-5-fluorofenil)-3-hidroxipropil]-N-hidroxycarbamato de *tert*-butilo

25



30

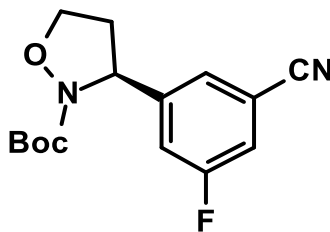
A una solución de (3S)-3-(3-ciano-5-fluorofenil)-5-hidroxiisoxazolidin-2-carboxilato de *tert*-butilo (77.5 g, 251.38 mmol, 1 eq.) en MeOH (750 ml) se añadió NaBH₄ (10.46 g, 276.51 mmol, 1.1 eq.) a 0 °C. La mezcla se agitó a 0 °C durante 3 h en N₂. La mezcla se desactivó con solución saturada de NH₄Cl (100 ml), se diluyó con agua (800 ml), se extrajo con acetato de etilo (1 L×3), se secó con Na₂SO₄, se filtró y se concentró. El residuo se purificó mediante HPLC de fase inversa preparativa (columna: Phenomenex luna C18, 15 µm, 100 Å, D.I. 150×H400 mm, eluyente: agua (0.1 % de ácido fórmico) y acetonitrilo, gradiente: de un 70 % a un 50 % de acetonitrilo en 50 min, un 50 % de acetonitrilo durante 26 min, flujo: 400 ml/min) y cromatografía en columna de gel de sílice (éter de petróleo/acetato de etilo = 1:0~1:1) para obtener el compuesto del título (59.5 g) como un solo rojo pardo, que se lavó disgregándolo con éter de petróleo/acetato de etilo (4:1, 500 ml) para obtener el compuesto del título (41 g de torta del filtro como un sólido blanco y 18 g de filtrado como un sólido rojo).

LC/MS: m/z = 211.1 [M-100+H]⁺; tR: 0.850 min (LC/MS-método C).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ ppm 7.52 (s, 1 H), 7.43 (td, J=1.9, 9.3 Hz, 1 H), 7.30 - 7.27 (m, 1 H), 5.25 (dd, J=5.0, 10.8 Hz, 1 H), 3.93 - 3.73 (m, 2 H), 2.45 - 2.33 (m, 1 H), 2.05 - 1.97 (m, 1 H), 1.46 (s, 9 H)

Paso 4

(3S)-3-(3-Ciano-5-fluorofenil)isoxazolidin-2-carboxilato de *tert*-butilo



25

A una solución de *N*-[(1S)-1-(3-ciano-5-fluorofenil)-3-hidroxipropil]-*N*-hidroxicarbamato de *tert*-butilo (41 g, 132.12 mmol, 1 eq.) en THF (410 ml) se añadieron tributilfosfano (42.77 g, 211.39 mmol, 52.16 ml, 1.6 eq.) y DIAD (34.73 g, 171.76 mmol, 33.40 ml, 1.3 eq.) a 0 °C. La mezcla se calentó hasta 20 °C suavemente, se agitó durante 12 h en atmósfera de N₂. El residuo se purificó

30

mediante HPLC de fase inversa preparativa (columna: Phenomenex luna C18, 15 μm , 100 Å, D.I. 150×H400 mm, eluyente: agua (0.1 % de ácido fórmico) y acetonitrilo, gradiente: de un 70 % a un 50 % de acetonitrilo en 50 min, un 50% de acetonitrilo durante 26 min, flujo: 400 ml/min) y se lavó disgregándolo con éter de petróleo/acetato de etilo (10:1, 500 mL) para obtener el compuesto del título (29.6 g de torta del filtro, 77 % de rendimiento, >99.9 % de e.e.) como un sólido blanco.

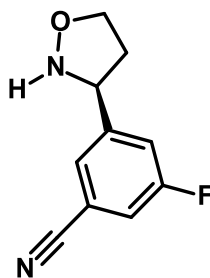
LC/MS: m/z = 193.2 $[\text{M}-100+\text{H}]^+$; t_R : 0.901 min (LC/MS-método C).

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ ppm 7.47 (s, 1 H), 7.36 (td, $J=1.8, 9.3$ Hz, 1 H), 7.27 - 7.24 (m, 1 H), 5.25 (dd, $J=5.6, 8.9$ Hz, 1 H), 4.20 (dt, $J=3.2, 8.0$ Hz, 1 H), 3.95 - 3.83 (m, 1 H), 2.85 (dddd, $J=3.3, 7.0, 8.9, 12.3$ Hz, 1 H), 2.24 (dddd, $J=5.6, 7.8, 9.2, 12.3$ Hz, 1 H), 1.50 (s, 9 H)

SFC (Columna: Chiralcel AD-3 50×4.6 mm de D.I., 3 μm , gradiente: de un 5 % a un 40 % de MeOH (0.05 % de DEA) en CO_2 , flujo: 3 ml/min, temp. de la columna: 35 °C, 100 bar): t_R = 0.97 min (100 %); t_R (enantiómero R) = 0.72 min (0 %)

Paso 5

3-Fluoro-5-[(3S)-isoxazolidin-3-il]benzonitrilo



A una solución de (3S)-3-(3-ciano-5-fluorofenil)isoxazolidin-2-carboxilato de *tert*-butilo (5.00 g, 17.11 mmol) en DCM (100 ml) se añadió TFA (14.8 g, 10.0 ml, 129.8 mmol). Después de 16 h a temperatura ambiente, se añadió tolueno (10 ml), la mezcla de reacción se evaporó y se agitó con solución saturada de NaHCO_3 durante 10 minutos. La fase acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo. La capa orgánica se secó con Na_2SO_4 , se filtró, se evaporó y se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (columna: 220 g de SiO_2 , eluyente: *n*-heptano y

acetato de etilo, gradiente: de un 0 % a un 100 % de acetato de etilo en 23 min) para obtener el compuesto del título (2.64 g, 13.7 mmol, 84 % de rendimiento).

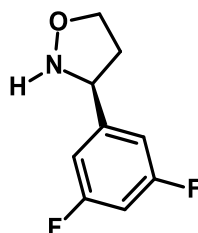
LC/MS: $m/z = 193.1$ $[M+H]^+$; tR: 1.19 min (LC/MS-método A).

^1H RMN (400.23 MHz, DMSO- d_6): δ ppm 7.71 (m, 1 H), 7.68 (s, 1 H), 7.58 (br d, $J=10.03$ Hz, 1 H), 6.62 (s a, 1 H), 4.53 (s a, 1 H), 3.92 (m, 1 H), 3.66 (m, 1 H), 2.63 (m, 1 H), 2.11 (m, 1 H).

Intermedio-02a

(3S)-3-(3,5-Difluorofenil)isoxazolidina

10

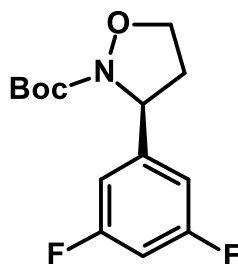


Paso 1

15

(3S)-3-(3,5-Difluorofenil)isoxazolidin-2-carboxilato de *tert*-butilo

20



El compuesto del título se sintetizó de forma análoga a los pasos 1-4 del Intermedio-01 utilizando 3,5-difluorobenzaldehído como material de partida para obtener 17 g (59.6 mmol, 79 % de rendimiento) del compuesto del título.

25

LC/MS: $m/z = 230.1$ $[M-56+H]^+$; tR: 0.936 min (LC/MS-método C).

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ ppm 6.90 (dd, $J=1.9, 8.0$ Hz, 2 H), 6.70 (tt, $J=2.3, 8.9$ Hz, 1 H), 5.19 (dd, $J=5.5, 8.8$ Hz, 1 H), 4.18 (dt, $J=3.6, 7.9$ Hz, 1 H), 3.94 - 3.82 (m, 1 H), 2.85 - 2.73 (m, 1 H), 2.33 - 2.19 (m, 1 H), 1.49 (s, 9 H)

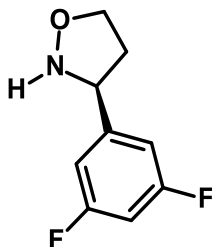
30

SFC (Columna: Chiralcel AD-3 50×4.6 mm de D.I., 3 µm, gradiente: de un 5 % a un 40 % de MeOH (0.05 % de DEA) en CO₂, flujo: 3 ml/min, temp. de la columna: 35 °C, 100 bar): t_R = 0.66 min (100 %)

Paso 2

5 (3S)-3-(3,5-Difluorofenil)isoxazolidina

10



15

A una solución de (3S)-3-(3,5-difluorofenil)isoxazolidin-2-carboxilato de *tert*-butilo (5.00 g, 17.53 mmol, 1.0 eq.) en DCM (100 ml) se añadió TFA (19.64 g, 15.7 ml, 175.30 mmol, 10.0 eq.). Después de 16 h a temperatura ambiente, se añadió tolueno (10 ml), la mezcla de reacción se evaporó y se agitó con solución saturada de NaHCO₃ durante 10 minutos. La fase acuosa se extrajo dos veces con DCM, la capa orgánica se secó con Na₂SO₄, se filtró y se evaporó para obtener el compuesto del título (3.24 g, 17.50 mmol, cuant.).

20

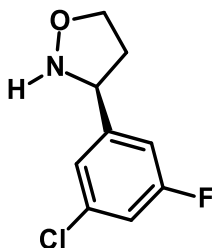
LC/MS: m/z = 186.0 [M+H]⁺; t_R: 1.32 min (LC/MS-método A).

¹H RMN (400.23 MHz, DMSO-d₆): δ ppm 7.07 (m, 3 H), 6.54 (s a, 1 H), 4.45 (s a, 1 H), 3.90 (m, 1 H), 3.66 (m, 1 H), 2.61 (m, 1 H), 2.08 (m, 1 H)

Intermedio-02b

(3S)-3-(3-Cloro-5-fluorofenil)isoxazolidina

25



30

El compuesto del título se sintetizó utilizando el método descrito para el Intermedio-02a y 3-cloro-5-fluorobenzaldehído para obtener una mezcla de

enantiómeros, que se purificó mediante SFC (columna: REGIS (s,s) WHELK-O1, 250×50 mm, 10 µm, eluyente: 15 % de EtOH (0.1 % de NH₃H₂O) en CO₂, proceso cíclico de un solo lote con un tiempo de latencia de 3.8 min entre dos inyecciones secuenciales, duración total de 120 min) para obtener el compuesto del título (3.9 g, 86 % de rendimiento) como un aceite amarillo y 78 mg (1.6 % de rendimiento) del enantiómero *R* como un aceite amarillo.

LC/MS: m/z = 246.3 [M-56+H]⁺, t_R: 0.900 min (LC/MS-método C).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ ppm 7.16 (s, 1 H), 6.95-7.03 (m, 2 H), 5.18 (dd, J=5.6, 8.7 Hz, 1 H), 4.18 (dt, J=3.5, 8.0 Hz, 1 H), 3.87 (dt, J=7.2, 8.6 Hz, 1 H), 2.79 (dddd, J=3.5, 7.0, 8.8, 12.3 Hz, 1 H), 2.19-2.30 (m, 1 H), 1.49 (s, 9 H)

SFC (Columna: Kromasil (S,S)Whelk-O1 50×4.6 mm de D.I., 3.5 µm, gradiente: de un 5 % a un 40 % de EtOH (0.05 % de DEA) en CO₂, flujo: 3 ml/min, temp. de la columna: 35 °C, 100 bar): t_R =1.069 min (100 %)

enantiómero *R*:

LC/MS: m/z = 246.3 [M-56+H]⁺, t_R: 0.890 min (LC/MS-método C).

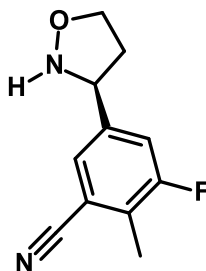
¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ ppm 7.16 (s, 1 H), 6.96-7.03 (m, 2 H), 5.18 (dd, J=5.6, 8.8 Hz, 1 H), 4.18 (dt, J=3.6, 7.9 Hz, 1 H), 3.83-3.92 (m, 1 H), 2.74-2.84 (m, 1 H), 2.20-2.31 (m, 1 H), 1.49 (s, 9 H)

SFC (Columna: Kromasil (S,S)Whelk-O1 50×4.6 mm de D.I., 3.5 µm, gradiente: de un 5 % a un 40 % de EtOH (0.05 % de DEA) en CO₂, flujo: 3 ml/min, temp. de la columna: 35 °C, 100 bar): t_R =0.890 min (100 %)

Intermedio -03

3-Fluoro-5-[(3*S*)-isoxazolidin-3-il]-2-metilbenzonitrilo

25

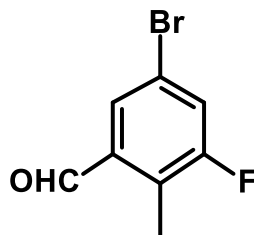


30

Paso 1

5-Bromo-3-fluoro-2-metilbenzaldehído

5



10 A una solución de 5-bromo-1-fluoro-3-yodo-2-metilbenceno (5 g, 15.88 mmol, 1 eq.) en THF (50 ml) se añadió i-PrMgCl (2 M, 8.73 ml, 1.1 eq.) a -60 °C, se agitó durante 15 min y después se añadió DMF (3.48 g, 47.63 mmol, 3.66 ml, 3 eq.). La mezcla de reacción se agitó a -10 °C durante 0.5 h. La mezcla de reacción se desactivó con solución saturada de NH₄Cl (20 ml) y se extrajo con acetato de etilo (50 mlx3). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (100 ml), se

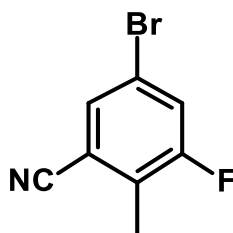
15 secó con Na₂SO₄, se filtró, se concentró a presión reducida y se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (éter de petróleo /acetato de etilo = 1:0 ~ 10:1) para obtener el compuesto del título (3.2 g, 93 % de rendimiento) como un sólido amarillo.

20 ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ ppm 10.20 (s, 1 H), 7.78 - 7.72 (m, 1 H), 7.44 (dd, J=1.9, 8.7 Hz, 1 H), 2.53 (d, J=2.1 Hz, 3 H)

Paso 2

5-Bromo-3-fluoro-2-metilbenzonitrilo

25



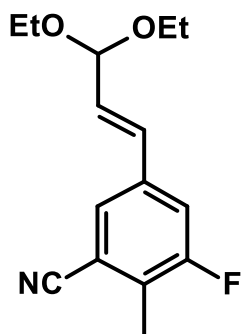
30 A una solución de 5-bromo-3-fluoro-2-metilbenzaldehído (9.5 g, 43.77 mmol, 1 eq.) en EtOH (95 ml) se añadieron TBHP (5 M en decano, 9.63 ml, 1.1 eq.), I₂ (277.74 mg, 1.09 mmol, 0.025 eq.), NH₄OAc (5.06 g, 65.66 mmol, 1.5 eq.) y

Na₂CO₃ (4.64 g, 43.77 mmol, 1 eq.), y después la mezcla se agitó a 50 °C durante 12 h. La mezcla de reacción se desactivó con solución saturada de Na₂SO₃ (20 ml), se diluyó con agua (100 ml) y se extrajo con acetato de etilo (100 ml×3). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (200 ml), se secó con Na₂SO₄, se filtró, se concentró a presión reducida y se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (éter de petróleo /acetato de etilo = 1:0 ~ 10:1) para obtener el compuesto del título (8 g, 85 % de rendimiento) como un sólido amarillo.

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ ppm 7.59 - 7.55 (m, 1 H), 7.44 (dd, J=1.9, 8.6 Hz, 1 H), 2.44 (d, J=2.1 Hz, 3 H)

Paso 3

5-[(*E*)-3,3-Dietoxiprop-1-enil]-3-fluoro-2-metilbenzonitrilo

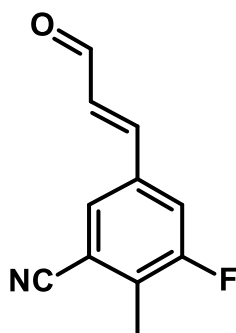


Una mezcla de 5-bromo-3-fluoro-2-metilbenzonitrilo (10.1 g, 47.19 mmol, 1 eq.), 3,3-dietoxiprop-1-eno (18.43 g, 141.57 mmol, 21.58 ml, 3 eq.), Pd(t-Bu₃P)₂ (1.21 g, 2.36 mmol, 0.05 eq.) y trietilamina (14.32 g, 141.57 mmol, 19.70 ml, 3 eq.) en DMF (100 ml) se agitó a 80 °C en atmósfera de N₂ durante 12 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El residuo se diluyó con agua (100 ml) y se extrajo con acetato de etilo (100 ml×3). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (100 ml×3), se secó con Na₂SO₄, se filtró y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto del título (13 g, bruto).

Paso 4

3-Fluoro-2-metil-5-[(*E*)-3-oxoprop-1-enil]benzonitrilo

5



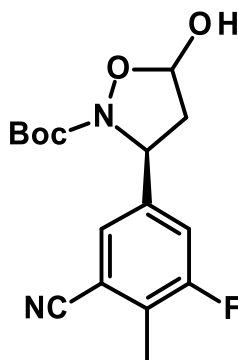
Una mezcla de 5-[(*E*)-3,3-dietoxiprop-1-enil]-3-fluoro-2-metilbenzonitrilo (13 g, bruto) en HCl (1 M, 94.38 ml, 2 eq.) y acetona (80 ml) se agitó a 25 °C durante 0.5 h. Se ajustó el pH de la mezcla con solución saturada de NaHCO₃ a 7~8 y se extrajo con acetato de etilo (100 ml×3). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (100 ml), se secó con Na₂SO₄, se filtró, se concentró a presión reducida y se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (éter de petróleo / acetato de etilo = de 1:0 a 3:1) para obtener el compuesto del título (5.5 g, 62 % de rendimiento) como un sólido amarillo.

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ ppm 9.74 (d, J=7.5 Hz, 1 H), 7.60 (s, 1 H), 7.46 (dd, J=1.5, 9.7 Hz, 1 H), 7.38 (d, J=16.0 Hz, 1 H), 6.70 (dd, J=7.4, 16.1 Hz, 1 H), 2.53 (d, J=2.1 Hz, 3 H)

Paso 5

(3*S*)-3-(3-Ciano-5-fluoro-4-metilfenil)-5-hidroxiisoxazolidin-2-carboxilato de *tert*-butilo

25



A una solución de [difeníl-[(2*S*)-pirrolidin-2-il]metoxi]trimetilsilano (1.82 g, 5.60 mmol, 0.2 eq.) en CHCl₃ (53 ml) se añadió 3-fluoro-2-metil-5-[(*E*)-3-oxoprop-

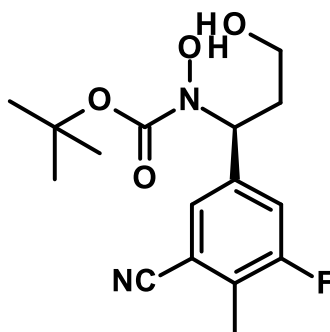
1-enil]benzonitrilo 3-fluoro-2-metil-5-[(*E*)-3-oxoprop-1-enil]benzonitrilo (5.3 g, 28.01 mmol, 1 eq.) a 0 °C, la mezcla se agitó a 0 °C durante 30 min y se añadió *N*-hidroxicarbamato de *tert*-butilo (4.48 g, 33.62 mmol, 1.2 eq.) a 0 °C. La mezcla se calentó hasta 20 °C suavemente y se agitó durante 12 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida y se purificó mediante HPLC de fase inversa preparativa (columna: Welch Ultimate XB_C18, 20-40 µm; 120 Å, D.I. 95×H365 mm, eluyente: agua (0.1 % de ácido fórmico) y acetonitrilo, gradiente: de un 20 % a un 50 % de acetonitrilo en 30 min y un 50 % de acetonitrilo durante 20 min, flujo: 200 ml/min) para obtener el compuesto del título (5.8 g, 64 % de rendimiento) como un sólido amarillo.

LC/MS: m/z = 205.2 $[M-100-18+H]^+$; t_R : 0.896 min (LC/MS-método C).

^1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$): δ ppm 7.40 (s, 1 H), 7.27 (s, 1 H), 5.86 (d, $J=4.3$ Hz, 1 H), 5.28 (t, $J=8.2$ Hz, 1 H), 2.80 (dd, $J=8.5, 12.5$ Hz, 1 H), 2.46 (d, $J=2.0$ Hz, 3 H), 2.19 (ddd, $J=4.3, 8.1, 12.5$ Hz, 1 H), 1.51 - 1.42 (m, 9 H)

Paso 6

N-[(1*S*)-1-(3-Ciano-5-fluoro-4-metilfenil)-3-hidroxipropil]-*N*-hidroxicarbamato de *tert*-butilo



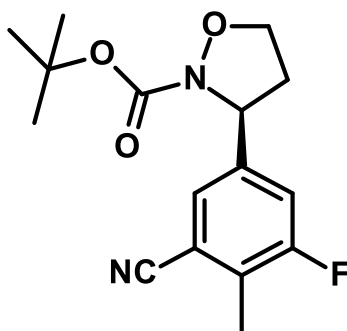
A una solución de (3*S*)-3-(3-ciano-5-fluoro-4-metilfenil)-5-hidroxiisoxazolidin-2-carboxilato de *tert*-butilo (4.8 g, 14.89 mmol, 1 eq.) en MeOH (48 ml) se añadió $NaBH_4$ (619.68 mg, 16.38 mmol, 1.1 eq.) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 1 h, se desactivó con solución saturada de NH_4Cl (20 ml) y se extrajo con acetato de etilo (100 ml×3). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (200 ml), se secó con Na_2SO_4 , se filtró, se concentró a presión reducida

y se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (éter de petróleo / acetato de etilo = de 1:0 a 0:1) para obtener el compuesto del título (3.6 g, 73 % de rendimiento) como un sólido blanco. Se lavó disgregándolo con éter de petróleo / acetato de etilo (3:1, 50 ml) para obtener 2.7 g de torta del filtro y 1.1 g de filtrado como un sólido amarillo.

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ ppm 7.46 (s, 1 H), 7.40 - 7.33 (m, 1 H), 6.75 (s a, 1 H), 5.22 (dd, $J=5.1, 10.8$ Hz, 1 H), 3.93 - 3.73 (m, 2 H), 2.46 (d, $J=2.0$ Hz, 3 H), 2.37 (dddd, $J=3.4, 7.5, 10.9, 14.6$ Hz, 1 H), 2.12 (s a, 1 H), 1.48 (s, 9 H)

Paso 7

(3S)-3-(3-Ciano-5-fluoro-4-metilfenil)isoxazolidin-2-carboxilato de *tert*-butilo



A una solución de *N*-[(1S)-1-(3-ciano-5-fluoro-4-metilfenil)-3-hidroxipropil]-*N*-hidroxicarbamato de *tert*-butilo (2.7 g, 8.32 mmol, 1 eq.) en THF (27 ml) se añadieron *n*- Bu_3P (2.69 g, 13.32 mmol, 3.29 ml, 1.6 eq.) y DIAD (2.19 g, 10.82 mmol, 2.10 ml, 1.3 eq.) a 0 °C. La mezcla se calentó hasta 25 °C suavemente y se agitó durante 12 h en atmósfera de N_2 . La reacción se concentró a presión reducida y se purificó mediante HPLC de fase inversa preparativa (columna: Welch Ultimate XB_C18 20-40 μm ; 120 Å, D.I. 75×H348 mm, eluyente: agua (0.1 % de ácido fórmico) y acetonitrilo, gradiente: de un 10 % a un 65 % de acetonitrilo en 28 min, un 65 % de acetonitrilo durante 5 min, flujo: 200 ml/min) y cromatografía en columna de gel de sílice (éter de petróleo / acetato de etilo = 1:0 ~ 0:1) para obtener el compuesto del título (2 g, 78 % de rendimiento, 94.1 % de e.e.) como un sólido blanco. El producto se separó adicionalmente mediante SFC (columna: DAICEL CHIRALPAK AD, 250×30 mm, 10 μm ; fase móvil: 25 % de

metanol (0.1 % de $\text{NH}_3\text{H}_2\text{O}$) en CO_2 , proceso cíclico de un solo lote con un tiempo de latencia de 3.0 min entre dos inyecciones secuenciales, duración total de 75 min) para obtener el compuesto del título (1.7 g, 85 % de rendimiento, >99.9 % de e.e.) como un sólido blanquecino.

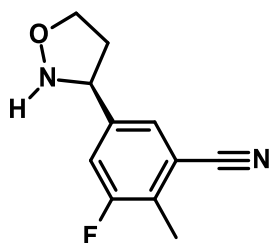
5 LC/MS: $m/z = 251.1$ $[\text{M}-56+\text{H}]^+$; t_R : 0.949 min (LC/MS-método C).

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ ppm 7.41 (s, 1H), 7.29 (dd, $J=1.4$, 10.0 Hz, 1H), 5.20 (dd, $J=5.6$, 8.8 Hz, 1H), 4.18 (dt, $J=3.4$, 8.0 Hz, 1H), 3.88 (dt, $J=7.2$, 8.7 Hz, 1H), 2.81 (dddd, $J=3.4$, 7.0, 8.8, 12.3 Hz, 1H), 2.45 (d, $J=2.0$ Hz, 3H), 2.23 (dddd, $J=5.5$, 7.8, 9.1, 12.3 Hz, 1H), 1.49 (s, 9H)

10 SFC (Columna: Chiralcel AD-3 50×4.6 mm de D.I., 3 μm , gradiente: de un 5 % a un 40 % de MeOH (0.05 % de DEA) en CO_2 , flujo: 3 ml/min, temp. de la columna: 35 °C, 100 bar): $t_R = 1.22$ min (100 %); t_R (enantiómero R) = 0.86 min (0 %)

Paso 8

15 3-Fluoro-5-[(3S)-isoxazolidin-3-il]-2-metilbenzonitrilo



20

A una solución de (3S)-3-(3-ciano-5-fluoro-4-metilfenil)isoxazolidin-2-carboxilato de *tert*-butilo (1.36 g, 4.44 mmol, 1.0 eq.) en DCM (40 ml) se añadió TFA (4.975 g, 3.974 ml, 44.40 mmol, 10.0 eq.). Después de 16 h a temperatura ambiente, se añadió tolueno (5 ml), la mezcla de reacción se evaporó y se agitó con solución saturada de NaHCO_3 durante 10 minutos. La fase acuosa se extrajo con DCM (10 ml×2), la capa orgánica se secó con Na_2SO_4 , se filtró y se evaporó para obtener el compuesto del título (860 mg, 4.17 mmol, 94 % de rendimiento).

25

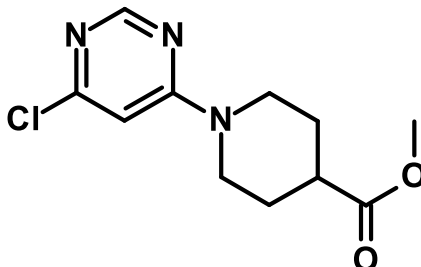
^1H RMN (400.23 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ ppm 7.62 (s, 1 H), 7.52 (br d, $J=10.64$ Hz, 1 H), 6.55 (s a, 1 H), 4.47 (s a, 1 H), 3.90 (td, $J=7.95$, 7.95, 5.14 Hz, 1 H), 3.67 (s a, 1 H), 2.60 (m, 1 H), 2.36 (d, $J=1.83$ Hz, 3 H), 2.09 (m, 1 H)

30

Intermedio -04

1-(6-Cloropirimidin-4-il)piperidin-4-carboxilato de metilo

5



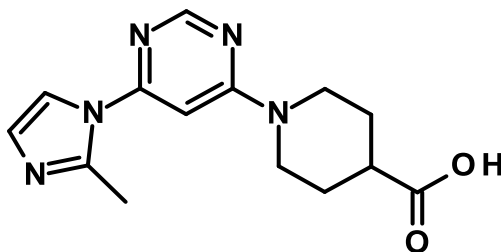
Una mezcla de 4,6-dicloropirimidina (80 g, 536.99 mmol, 1 eq.), piperidin-4-carboxilato de metilo (96.47 g, 536.99 mmol, 1 eq., HCl), DIEA (208.21 g, 1.61 mol, 280.60 ml, 3 eq.) en *n*-BuOH (700 ml) se desgasificó y se purgó con N₂, y después la mezcla se agitó a 80 °C durante 2 h en atmósfera de N₂. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para eliminar el *n*-BuOH. A continuación, se diluyó con H₂O (100 ml) y EA (200 ml), se ajustó el pH a 6 con una solución de HCl 1 N y se extrajo con acetato de etilo (200 ml×3). La capa orgánica combinada se lavó con una solución acuosa de NaHCO₃ (500 ml), salmuera (500 ml), se secó con Na₂SO₄, se filtró y se concentró para obtener el compuesto del título (135.4 g, 529.53 mmol, 97 % de rendimiento) como un sólido amarillo.

LC/MS: *m/z* = 256.1 [M+H]⁺; tR: 0.737 min (LC/MS-método C).
¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ ppm 8.32 (s, 1 H), 6.97 (s, 1 H), 4.38 - 4.19 (m, 2 H), 3.62 (s, 3 H), 3.16 - 3.02 (m, 2 H), 2.71 (tt, J=4.0, 10.8 Hz, 1 H), 1.96 - 1.84 (m, 2 H), 1.60 - 1.44 (m, 2 H)

Intermedio -05

Ácido 1-[6-(2-metilimidazol-1-il)pirimidin-4-il]piperidin-4-carboxílico

25

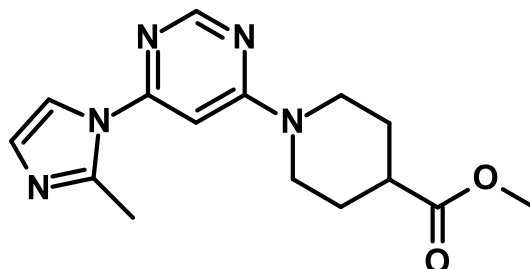


30

Paso 1

1-[6-(2-Metilimidazol-1-il)pirimidin-4-il]piperidin-4-carboxilato de metilo

5



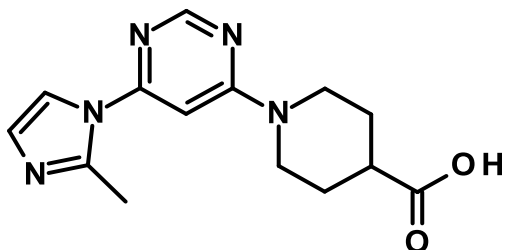
Una mezcla del Intermedio-04 (3.97 g, 15.53 mmol, 1 eq.), 2-metil-1*H*-
 10 imidazol (2.55 g, 31.05 mmol, 2 eq.), K₂CO₃ (8.58 g, 62.10 mmol, 4 eq.) y CuI
 (1.48 g, 7.76 mmol, 0.5 eq.) en DMSO (40 ml) se desgasificó y se purgó con N₂ 3
 veces. La mezcla se agitó a 120 °C durante 12 h en atmósfera de N₂. La mezcla
 de reacción se filtró, se diluyó con agua (400 ml) y se extrajo con acetato de etilo
 (200 ml×3). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (300 ml), se secó
 15 con Na₂SO₄, se filtró, se concentró y se purificó mediante cromatografía
 ultrarrápida en gel de sílice (eluyente: éter de petróleo y acetato de etilo, gradiente:
 de un 35 % a un 70 % de acetato de etilo, y eluyente: MeOH y DCM, gradiente: de
 un 5 % a un 15 % de MeOH) para obtener el compuesto del título (2.3 g, 7.63
 mmol, 49 % de rendimiento) como un aceite amarillo.

20 LC/MS: m/z = 302.1 [M+H]⁺; tR: 0.615 min (LC/MS-método C).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ ppm 8.54 (s, 1 H), 7.30 (s, 1 H), 7.04 (s, 1 H),
 6.41 (s, 1 H), 4.32 (br d, J=13.1 Hz, 2 H), 3.73 (s, 3 H), 3.18 (ddd, J=3.0, 11.0, 13.7
 Hz, 2 H), 2.67 (s, 3 H), 2.08 - 2.03 (m, 2 H), 1.84 - 1.74 (m, 3 H)

Paso 2

25 Ácido 1-[6-(2-metilimidazol-1-il)pirimidin-4-il]piperidin-4-carboxílico



5

A una solución de 1-[6-(2-metilimidazol-1-il)pirimidin-4-il]piperidin-4-carboxilato de metilo (4.46 g, 14.80 mmol, 1 eq.) en THF (50 ml), se añadió LiOH•H₂O (1 M, 29.60 ml, 2 eq.). La mezcla se agitó a 20 °C durante 1 h. Se ajustó el pH de la mezcla de reacción a 3 con una solución acuosa de HCl 4 N, la mezcla se concentró al vacío y se purificó mediante HPLC de fase inversa (columna: Welch Ultimate XB_C18, 20-40 µm, 120 Å; eluyente: agua (0.1 % de ácido fórmico) y acetonitrilo, gradiente: de un 100 % a un 10 % de acetonitrilo en 20 min, un 10% de acetonitrilo durante 20 min, flujo: 100 ml/min) para obtener el compuesto del título (3.5 g, 10.81 mmol, 73 % de rendimiento, HCl) como un sólido amarillo.

15

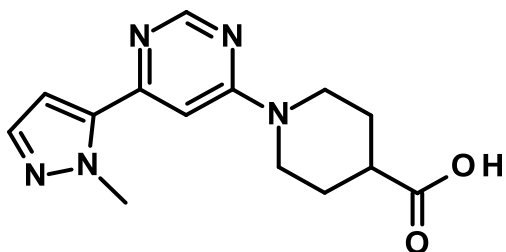
LC/MS: m/z = 288.2 [M+H]⁺; tR: 0.700 min (LC/MS método D).

20

¹H RMN (400 MHz, D₂O): δ ppm 8.50 (s, 1 H), 7.70 (d, J=2.3 Hz, 1 H), 7.47 (d, J=2.2 Hz, 1 H), 7.08 (s, 1 H), 4.34 - 4.17 (m, 2 H), 3.34 - 3.26 (m, 2 H), 2.83 - 2.76 (m, 1 H), 2.73 (s, 3 H), 2.06 (br dd, J=3.4, 13.5 Hz, 2 H), 1.75 - 1.65 (m, 2 H)

Intermedio -06

Ácido 1-[6-(2-metilpirazol-3-il)pirimidin-4-il]piperidin-4-carboxílico



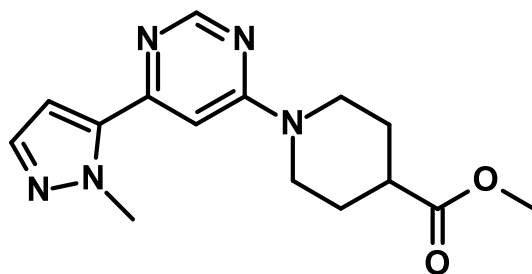
25

Paso 1

1-[6-(2-Metilpirazol-3-il)pirimidin-4-il]piperidin-4-carboxilato de metilo

30

5



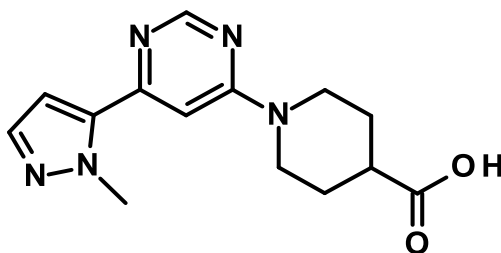
A una solución del Intermedio-04 (25 g, 97.77 mmol, 1 eq.) en dioxano (200 ml) y H₂O (40 ml) se añadieron K₂CO₃ (27.03 g, 195.54 mmol, 2 eq.), 1-metil-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)pirazol (20.34 g, 97.77 mmol, 1 eq.) y Pd(dppf)Cl₂ (7.15 g, 9.78 mmol, 0.1 eq.). La mezcla se agitó a 120 °C durante 2 h en atmósfera de N₂. El residuo se diluyó con H₂O (200 ml) y se extrajo con acetato de etilo (300 ml×2). La capa orgánica combinada se secó con Na₂SO₄, se filtró, se concentró a presión reducida y se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice (columna: ultrarrápida con 220 g de sílice SepaFlash®, eluyente: éter de petróleo y acetato de etilo, gradiente: de un 0 % a 20 % de acetato de etilo, flujo: 100 ml/min) para obtener el compuesto del título (29.3 g, 86.44 mmol, 88 % de rendimiento) como un aceite amarillo.

LC/MS: m/z = 302.1 [M+H]⁺; tR: 0.644 min (LC/MS-método C).

Paso 2

20 Ácido 1-[6-(2-metilpirazol-3-il)pirimidin-4-il]piperidin-4-carboxílico

25



A una solución de 1-[6-(2-metilpirazol-3-il)pirimidin-4-il]piperidin-4-carboxilato de metilo (29.3 g, 97.23 mmol, 1 eq.) en THF (250 ml) y H₂O (50 ml) se añadió LiOH·H₂O (12.24 g, 291.69 mmol, 3 eq.). La mezcla se agitó a 25 °C durante 12 h, se ajustó el pH a 5 con solución de HCl 1 N, se concentró a presión

30

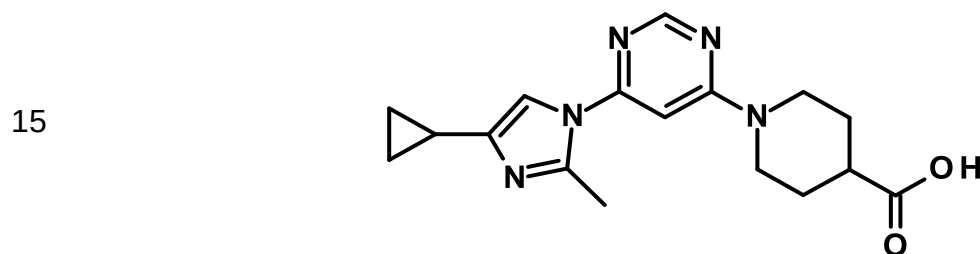
reducida y se filtró. La torta del filtro se lavó con H₂O (50 ml) y se lavó disgregándola con acetato de etilo a 20 °C durante 1 h para obtener compuesto el compuesto del título (19.4 g, 64.89 mmol, 67 % de rendimiento) como un sólido gris.

5 LC/MS: m/z = 288.4 $[M+H]^+$; tR: 0.295 min (LC/MS-método C).

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ ppm 12.30 (s, 1 H), 8.57 (d, J=0.9 Hz, 1 H), 7.48 (d, J=2.0 Hz, 1 H), 7.13 (d, J=0.9 Hz, 1 H), 6.95 (d, J=2.0 Hz, 1 H), 4.37 (d, J=12.6 Hz, 2 H), 4.14 (s, 3 H), 3.17 - 3.02 (m, 2 H), 2.64 - 2.54 (m, 1 H), 1.97 - 1.83 (m, 2 H), 1.58 - 1.41 (m, 2 H)

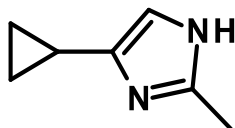
10 Intermedio -07

Ácido 1-[6-(4-ciclopropil-2-metilimidazol-1-il)pirimidin-4-il]piperidin-4-carboxílico



Paso 1

20 4-Ciclopropil-2-metil-1H-imidazol



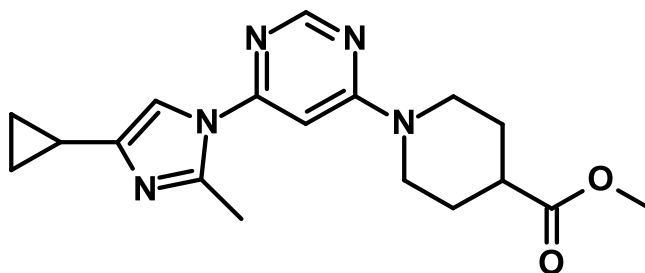
A una solución de acetamida (10.3 g, 108.94 mmol, 5 eq., HCl) en MeOH
 25 (100 ml) se añadió NaOH (4.36 g, 108.94 mmol, 5 eq.) a 0 °C. La mezcla se agitó a 25 °C durante 3 h. La mezcla de reacción se filtró, el filtrado se concentró al vacío y el residuo se disolvió en acetonitrilo (60 ml). A 25 °C, se añadieron una solución de K₂CO₃ (6.02 g, 43.58 mmol, 2 eq.) en H₂O (30 ml) y una solución de 2-bromo-1-ciclopropiletanona (3.55 g, 21.79 mmol, 1 eq.) en acetonitrilo (10 ml) y se
 30 agitó a 25 °C durante 12 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida

y se filtró. La torta del filtro se lavó con agua para obtener el compuesto del título como un producto bruto (1.5 g, 12.28 mmol, 56 % de rendimiento) como un sólido blanco, que se utilizó directamente en el siguiente paso.

¹H RMN: (400 MHz, CDCl₃): δ ppm 9.43 - 8.77 (m, 1 H), 6.52 (s, 1 H), 2.28 (s, 3 H), 1.79 - 1.66 (m, 1 H), 0.79 - 0.69 (m, 2 H), 0.63 - 0.55 (m, 2 H)

Paso 2

1-[6-(4-Ciclopropil-2-metilimidazol-1-il)pirimidin-4-il]piperidin-4-carboxilato de metilo

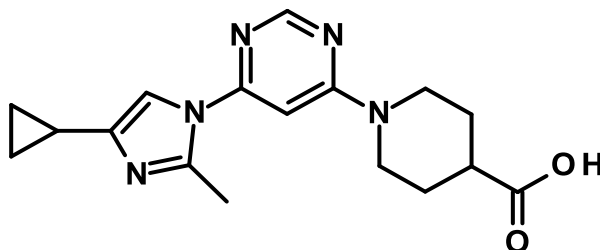


A una solución de 4-ciclopropil-2-metil-1*H*-imidazol (573.33 mg, 4.69 mmol, 1.2 eq.) en DMF (10 ml) se añadieron Cs₂CO₃ (2.55 g, 7.82 mmol, 2 eq.) y el Intermedio-04 (1 g, 3.91 mmol, 1 eq.) en atmósfera de N₂. La mezcla de reacción se agitó a 120 °C durante 12 h y se enfrió hasta 25 °C. Se añadió MeI (275 mg, 19.5 mmol, 5 eq.), la mezcla de reacción se mantuvo en N₂ a 25 °C durante 2 h, se vertió en solución acuosa saturada de NaHCO₃ (100 ml) y se extrajo con acetato de etilo (50 ml×3). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (50 ml), se secó con Na₂SO₄, se filtró, se concentró y se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: éter de petróleo y acetato de etilo, gradiente: de 10/1 a 0/1) para obtener el compuesto del título (1 g, bruto) como un aceite amarillo.

LC/MS: m/z = 342.3 [M+H]⁺; tR: 0.739 min (LC/MS-método C).

Paso 3

Ácido 1-[6-(4-ciclopropil-2-metilimidazol-1-il)pirimidin-4-il]piperidin-4-carboxílico



5

A una solución de 1-[6-(4-ciclopropil-2-metilimidazol-1-il)pirimidin-4-il]piperidin-4-carboxilato de metilo (900 mg, 2.64 mmol, 1 eq.) en THF (4 ml) y H₂O (4 ml) se añadió LiOH•H₂O (331.87 mg, 7.91 mmol, 3 eq.) en atmósfera de N₂. La mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 12 h, se ajustó el pH a 4 con solución de HCl 1 N y se extrajo con acetato de etilo (50 ml×3). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (100 ml), se secó con Na₂SO₄, se filtró y se concentró. El residuo se purificó mediante HPLC de fase inversa (columna: columna ultrarrápida con 330 g Welch Ultimate XB_C18, 20-40 μm, 120 Å, eluyente: agua (0.1 % de HCl) y acetonitrilo, gradiente: de un 0 % a un 20 % de acetonitrilo en 20 min, un 20 % de acetonitrilo durante 10 min, flujo: 100 ml/min) y se lavó disgregándolo con éter de petróleo/acetato de etilo (1:1, 7 ml) a 25 °C para obtener el compuesto del título (540 mg, 1.62 mmol, 53 % de rendimiento) como un sólido blanco.

20

LC/MS: m/z = 328.2 [M+H]⁺; tR: 0.685 min (LC/MS-método C).

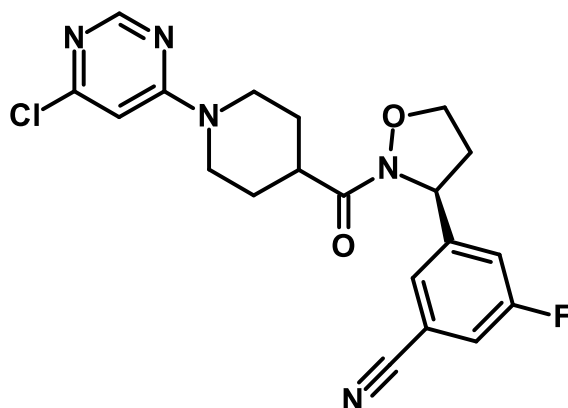
¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ ppm 8.54 (s, 1 H), 7.94 (s, 1 H), 7.13 (s, 1 H), 4.45 - 4.35 (m, 2 H), 3.24 - 3.11 (m, 2 H), 2.81 (s, 3 H), 2.70 - 2.60 (m, 1 H), 2.07 - 1.84 (m, 3 H), 1.62 - 1.41 (m, 2 H), 1.09 - 0.98 (m, 2 H), 0.93 - 0.83 (m, 2 H)

Intermedio -08

25

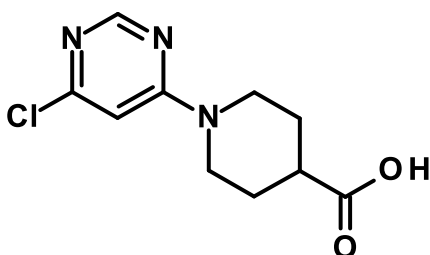
3-[(3S)-2-[1-(6-Cloropirimidin-4-il)piperidin-4-carbonil]isoxazolidin-3-il]-5-fluorobenzonitrilo

30



Paso 1:

Ácido 1-(6-cloropirimidin-4-il)piperidin-4-carboxílico



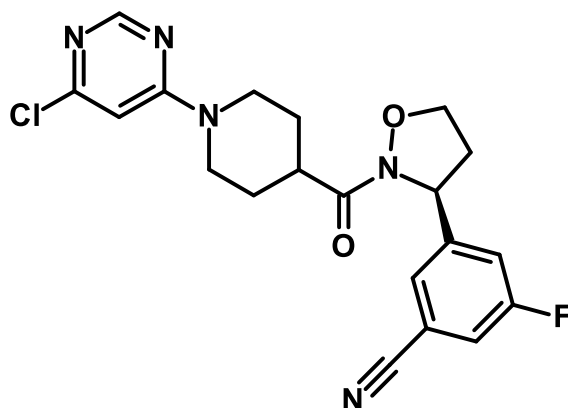
A una mezcla del Intermedio-04 (3 g, 11.73 mmol, 1 eq.) en THF (10 ml) y H₂O (10 ml) se añadió LiOH·H₂O (1 M, 23.46 ml, 2 eq.) y la mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 1 h. Se ajustó el pH de la mezcla de reacción a 3-4 con HCl 1M, se filtró y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto del título (2.43 g, 86 % de rendimiento), que se utilizó directamente en el siguiente paso.

LC/MS: m/z = 242.0 [M+H]⁺; t_R: 0.835 min (LC/MS-método D).

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ ppm 12.43 -12.20 (m, 1 H), 8.32 (s, 1 H), 6.97 (s, 1 H), 4.37 -4.14 (m, 2 H), 3.16 -3.05 (m, 2 H), 2.62 -2.55 (m, 1 H), 1.88 (br dd, J=13.5, 3.5 Hz, 2 H), 1.55 -1.42 (m, 2 H)

Paso 2:

3-[(3S)-2-[1-(6-Cloropirimidin-4-il)piperidin-4-carbonil]isoxazolidin-3-il]-5-fluorobenzonitrilo



5

10

15

A una solución de ácido 1-(6-cloropirimidin-4-il)piperidin-4-carboxílico (4 g, 16.55 mmol, 1 eq.), se añadieron 3-fluoro-5-[(3*S*)-isoxazolidin-3-il]benzonitrilo (3.97 g, 17.38 mmol, 1.05 eq., HCl) en DMF (40 ml), HATU (12.59 g, 33.10 mmol, 2 eq.) y DIEA (10.70 g, 82.76 mmol, 14.41 ml, 5 eq.). La mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 12 h. La mezcla de reacción se filtró, se concentró a presión reducida y se purificó mediante cromatografía en columna (SiO₂, éter de petróleo/acetato de etilo = de 4/1 a 3/1) para obtener el compuesto del título (4 g, 58 % de rendimiento) como un sólido pardo.

LC/MS: m/z = 214.0 $[M+H]^+$; t_R : 0.637 min (LC/MS-método C).

20

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ ppm 8.39 (s, 1 H), 7.42 (s, 1 H), 7.31 -7.29 (m, 1 H), 7.27 (br d, J =1.6 Hz, 1 H), 6.55 (s, 1 H), 5.42 (dd, J =8.8, 6.4 Hz, 1 H), 4.35 (td, J =7.9, 3.0 Hz, 3 H), 4.01 -3.89 (m, 1 H), 3.21 -3.08 (m, 4 H), 2.99 -2.90 (m, 1 H), 2.41 -2.30 (m, 1 H), 2.14 -2.07 (m, 1 H), 1.89 -1.76 (m, 3 H)

25

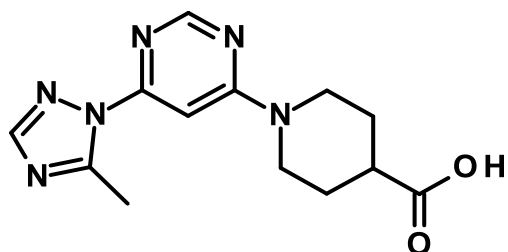
SFC (Columna: Chiralcel OJ-3 50×4.6 mm de D.I., 3 μ m, gradiente: de un 5 % a un 40 % de MeOH (0.05 % de DEA) en CO₂, flujo: 3 ml/min, temp. de la columna: 35 °C, 100 bar): t_R = 1.42 min (100 %)

Intermedio -09

Ácido 1-[6-(5-metil-1,2,4-triazol-1-il)pirimidin-4-il]piperidin-4-carboxílico

30

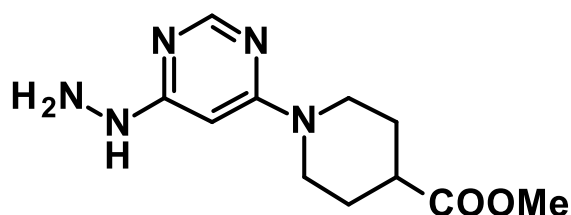
5



Paso 1

1-(6-Hidrazinopirimidin-4-il)piperidin-4-carboxilato de metilo

10



A una solución del Intermedio-04 (1 g, 3.91 mmol, 1 eq.) en i-PrOH (10 ml) se añadieron DIEA (1.01 g, 7.82 mmol, 1.36 ml, 2 eq.) y $\text{N}_2\text{H}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (253.36 mg, 4.30 mmol, 245.98 μl , 85 % de pureza, 1.1 eq.). La mezcla se agitó a 80 °C durante 12 h, y se diluyó con agua (50 ml) y se extrajo con acetato de etilo (30 ml $\times$ 3). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (50 ml $\times$ 2), se secó con Na_2SO_4 , se filtró y se concentró para obtener el compuesto del título (980 mg, bruto) como un sólido blanco.

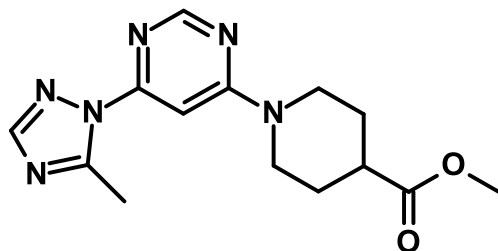
20

LC/MS: $m/z = 252.3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$; tR: 0.703 min (LC/MS método D).

Paso 2

1-[6-(5-Metil-1,2,4-triazol-1-il)pirimidin-4-il]piperidin-4-carboxilato de metilo

25



A una solución de 1-(6-hidrazinopirimidin-4-il)piperidin-4-carboxilato de metilo (980 mg, 3.90 mmol, 1 eq.) y ácido *p*-toluenosulfónico (671.57 mg, 3.90

30

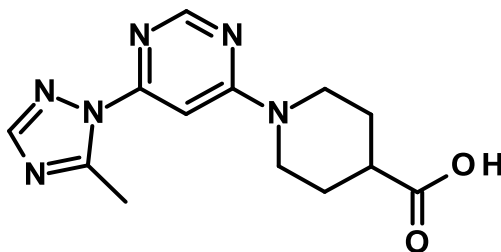
mmol, 1 eq.) en EtOH (10 ml) se añadió *N*-(dimetilaminometileno)acetamida (890.33 mg, 7.80 mmol, 2 eq.) a 25 °C. La mezcla de reacción se agitó a 80 °C durante 2 h y se concentró para eliminar la mayor parte del disolvente. Se añadió solución acuosa saturada de NaHCO₃ (30 ml) y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (20 ml×2). La capa orgánica se lavó con salmuera (50 ml), se secó con Na₂SO₄, se filtró, se concentró y se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice (columna: columna ultrarrápida con 20 g de sílice SepaFlash®, eluyente: éter de petróleo y acetato de etilo, gradiente: de un 10 % a un 40 % de acetato de etilo, flujo: 60 ml/min) para obtener el compuesto del título (475 mg, 1.56 mmol, 40 % de rendimiento) como un sólido blanco.

LC/MS: m/z = 303.2 [M+H]⁺; tR: 0.799 min (LC/MS-método C).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ ppm 8.51 (s, 1 H), 7.90 (s, 1 H), 7.07 (s, 1 H), 4.45 - 4.31 (m, 2 H), 3.72 (s, 3 H), 3.17 (t a, J=11.9 Hz, 2 H), 2.92 (s, 3 H), 2.70 - 2.61 (m, 1 H), 2.03 (s a, 1 H), 1.77 (q, J=10.4 Hz, 2 H)

Paso 3

Ácido 1-[6-(5-metil-1,2,4-triazol-1-il)pirimidin-4-il]piperidin-4-carboxílico



A una solución de 1-[6-(5-metil-1,2,4-triazol-1-il)pirimidin-4-il]piperidin-4-carboxilato de metilo (475 mg, 1.57 mmol, 1 eq.) en THF (5 ml) se añadió LiOH·H₂O (1 M, 3.14 ml, 2 eq.). La mezcla se agitó a 25 °C durante 1 h, se ajustó el pH a 3 con solución acuosa de HCl 1 N, se concentró para eliminar la mayor parte del disolvente y se filtró. La torta del filtro se recogió y se secó para obtener el compuesto del título (470 mg, bruto) como un sólido blanco.

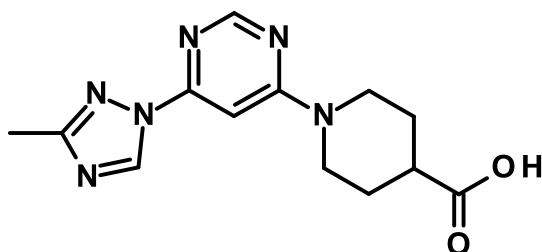
LC/MS: m/z = 289.0 [M+H]⁺; tR: 0.729 min (LC/MS-método C).

^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6): δ ppm 12.31 (s a, 1 H), 8.51 (s, 1 H), 8.09 (s, 1 H), 7.08 (s, 1 H), 4.31 (br d, $J=2.3$ Hz, 2 H), 3.15 (t a, $J=11.1$ Hz, 2 H), 2.77 (s, 3 H), 2.60 (ddd, $J=4.1, 6.8, 10.7$ Hz, 1 H), 1.91 (br dd, $J=3.2, 13.2$ Hz, 2 H), 1.57 - 1.47 (m, 2 H)

5 Intermedio -10

Ácido 1-[6-(3-metil-1,2,4-triazol-1-il)pirimidin-4-il]piperidin-4-carboxílico

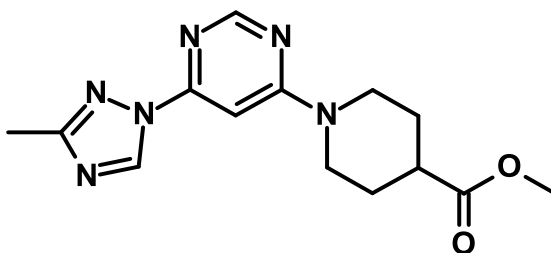
10



Paso 1

1-[6-(3-Metil-1,2,4-triazol-1-il)pirimidin-4-il]piperidin-4-carboxilato de metilo

15



20

A una solución de 5-metil-1*H*-1,2,4-triazol (1.17 g, 14.08 mmol, 1.2 eq.) en DMF (30 ml) se añadieron Cs_2CO_3 (7.65 g, 23.46 mmol, 2 eq.), el Intermedio-04 (3 g, 11.73 mmol, 1 eq.) y tamiz molecular de 4 Å (3 g, 11.73 mmol, 1 eq.) en atmósfera de N_2 . La mezcla de reacción se agitó a 120 °C durante 12 h y se enfrió hasta 25 °C. Se añadió MeI (833 mg, 58.6 mmol, 5 eq.) y la mezcla de reacción se

25

mantuvo en atmósfera de N_2 a 25 °C durante 2 h. La mezcla de reacción se filtró, se diluyó con agua (300 ml) y se extrajo con acetato de etilo (200 ml×3). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (300 ml×2), se secó con Na_2SO_4 , se filtró, se concentró y se purificó mediante HPLC preparativa (columna: Welch Ultimate XB-CN 250×50 mm, 10 μm , eluyente: 2 % de EtOH (0.1 % de ácido

30

fórmico) en hexano, 18 min) para obtener el compuesto del título como una mezcla

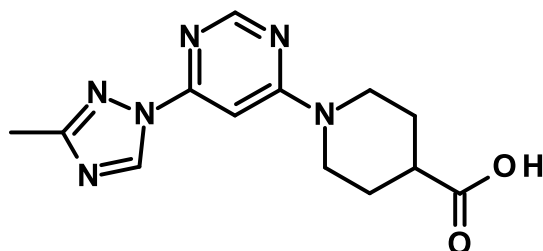
con el subproducto 1-[6-(5-metil-1,2,4-triazol-1-il)pirimidin-4-il]piperidin-4-carboxilato de metilo (Intermedio-09, paso 2) (5 g, 15.05 mmol, 87 % de rendimiento) como un sólido blanco.

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ ppm 9.05 (s, 1 H), 8.52 (s, 1 H), 7.93 (s, 1 H), 7.08 (s, 1 H), 4.42 - 4.32 (m, 2 H), 3.72 (s, 3 H), 3.22 - 3.15 (m, 2 H), 2.94 (s, 3 H), 2.70 - 2.64 (m, 1 H), 2.05 (br dd, J=2.8, 13.8 Hz, 2 H), 1.82 - 1.78 (m, 2 H)

Paso 2

Ácido 1-[6-(3-metil-1,2,4-triazol-1-il)pirimidin-4-il]piperidin-4-carboxílico

10



15

A una solución de 1-[6-(3-metil-1,2,4-triazol-1-il)pirimidin-4-il]piperidin-4-carboxilato de metilo y el subproducto 1-[6-(5-metil-1,2,4-triazol-1-il)pirimidin-4-il]piperidin-4-carboxilato de metilo (4.9 g, 16.21 mmol, 1 eq.) en THF (50 ml) se añadió LiOH•H₂O (1 M, 32.41 ml, 2 eq.). La mezcla se agitó a 25 °C durante 1 h, se ajustó el pH a 3 con solución acuosa de HCl 1 N, se concentró para eliminar la mayor parte del disolvente y se filtró. La torta del filtro se recrystalizó en DMF (50 ml) a 80 °C durante 1 h y se filtró para obtener el compuesto del título (4 g, 13.87 mmol, 86 % de rendimiento) como un sólido blanco.

20

LC/MS: m/z = 289 [M+H]⁺; tR: 0.649 min (LC/MS-método C).

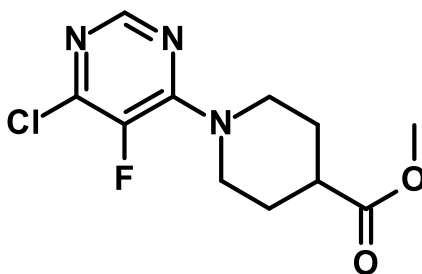
25

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ ppm 12.35 (s a, 1 H), 9.20 (s, 1 H), 8.45 (s, 1 H), 6.99 (s, 1 H), 4.33 (br dd, J=4.6, 2.1 Hz, 2 H), 3.15 (t a, J=11.5 Hz, 2 H), 2.66 - 2.56 (m, 1 H), 2.39 (s, 3 H), 1.98 - 1.87 (m, 2 H), 1.60 - 1.46 (m, 2 H)

Intermedio-11a

1-(6-Cloro-5-fluoropirimidin-4-il)piperidin-4-carboxilato de metilo

30



5

Una mezcla de 4,6-dicloro-5-fluoropirimidina (1 g, 5.99 mmol, 1 eq.), piperidin-4-carboxilato de metilo (806.21 mg, 5.63 mmol, 0.94 eq.), DIEA (2.32 g, 17.97 mmol, 3.13 ml, 3 eq.) en dioxano (10 ml) se desgasificó y se purgó con N₂, y después la mezcla se agitó a 80 °C durante 2 h en atmósfera de N₂. El residuo se diluyó con H₂O (30 ml) y se extrajo con acetato de etilo (30 ml×2). La capa orgánica combinada se secó con Na₂SO₄, se filtró, se concentró a presión reducida y se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice (columna: columna ultrarrápida con 20 g de sílice SepaFlash®, eluyente: éter de petróleo y acetato de etilo, gradiente: de un 0 % a un 50 % de acetato de etilo, flujo: 50 ml/min) para obtener el compuesto del título (1.45 g, 5.30 mmol, 88 % de rendimiento) como un aceite amarillo.

15

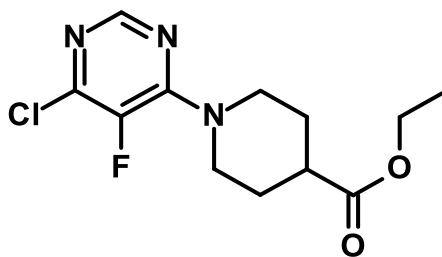
LC/MS: m/z = 374.1[M+H]⁺; t_R: 0.894 min (LC/MS-método C).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ ppm 8.20 - 8.12 (m, 1 H), 4.51 - 4.34 (m, 2 H), 3.75 - 3.69 (m, 3 H), 3.31 - 3.15 (m, 2 H), 2.72 - 2.57 (m, 1 H), 2.09 - 1.98 (m, 2 H), 1.89 - 1.75 (m, 2 H)

20

Intermedio -11b

1-(6-Cloro-5-fluoropirimidin-4-il)piperidin-4-carboxilato de etilo



25

30

Una mezcla de 4,6-dicloro-5-fluoropirimidina (1.06 g, 6.36 mmol, 1 eq.), piperidin-4-carboxilato de etilo (1.00 g, 6.36 mmol, 1.0 eq.), DIEA (3.29 g, 25.44 mmol, 4.43 ml, 4 eq.) en acetonitrilo (20 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. El residuo se diluyó con H₂O (30 ml) y se extrajo con acetato de etilo (30 ml×2). La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo y se lavó dos veces con HCl 0.1 N. La capa orgánica combinada se lavó con agua, se secó con Na₂SO₄, se filtró y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto del título (1.65 g, 5.73 mmol, 90 % de rendimiento).

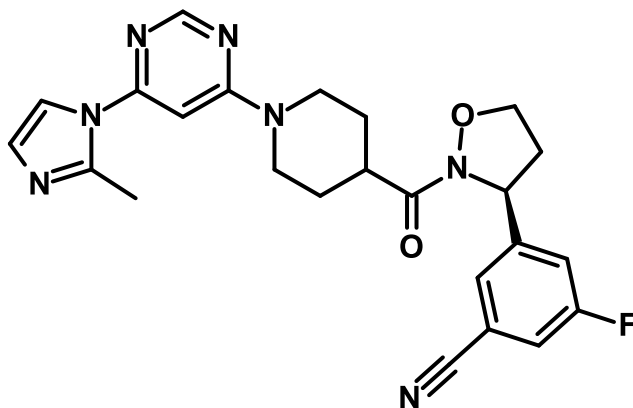
LC/MS: m/z = 288.1 [M+H]⁺; tR: 2.14 min (LC/MS-método A).

¹H RMN (400.23 MHz, DMSO-d₆): δ ppm 8.19 (d, J=1.34 Hz, 1 H), 4.29 (m, 2 H), 4.08 (q, J=7.09 Hz, 2 H), 3.24 (m, 2 H), 2.71 (m, 1 H), 1.93 (m, 2 H), 1.62 (m, 2 H), 1.19 (t, J=7.09 Hz, 3 H)

Síntesis de los ejemplos:

Ejemplo 1

3-Fluoro-5-[(3S)-2-[1-[6-(2-metilimidazol-1-il)pirimidin-4-il]piperidin-4-carbonil]isoxazolidin-3-il]benzonitrilo



Una mezcla del Intermedio-05 (300 mg, 926.56 umol, 1 eq., HCl), el Intermedio-01 (222.45 mg, 972.89 umol, 1.05 eq., HCl), HATU (528.46 mg, 1.39 mmol, 1.5 eq.) y DIEA (838.24 mg, 6.49 mmol, 1.13 ml, 7 eq.) en DMF (3 ml) se agitó a 20 °C durante 12 h. La mezcla de reacción se diluyó con agua (20 ml) y se extrajo con acetato de etilo (10 ml×3). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (15 ml×2), se secó con Na₂SO₄, se filtró, se concentró y se purificó

mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice (eluyente: DCM y MeOH, gradiente: de un 0 % a un 10 % de MeOH), después mediante HPLC preparativa (columna: Phenomenex Gemini-NX C18 75×30 mm, 3 µm, eluyente: agua (0.225 % de ácido fórmico) y acetonitrilo, gradiente: de un 12 % a un 42 % de acetonitrilo en 5 min) para obtener el compuesto del título (229 mg, 491.16 µmol, 53 de rendimiento) como un sólido amarillo.

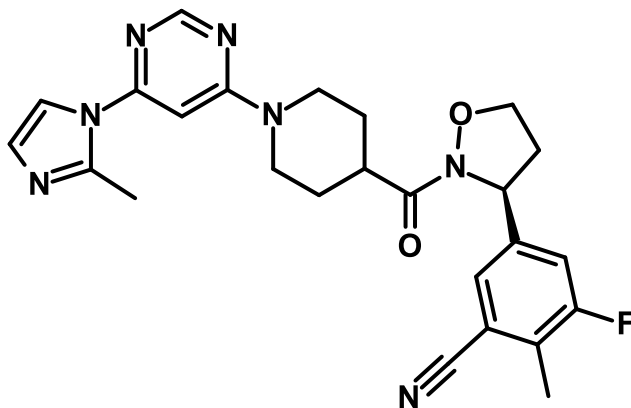
LC/MS: m/z = 462.1 [M+H]⁺; tR: 0.501 min (LC/MS-método C).

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ ppm 8.48 (s, 1 H), 7.78 (br d, J=8.4 Hz, 1 H), 7.66 - 7.60 (m, 2 H), 7.49 (br d, J=9.7 Hz, 1 H), 6.90 (s, 2 H), 5.39 (t a, J=7.5 Hz, 1 H), 4.48 (br d, J=3.9 Hz, 2 H), 4.30 (dt, J=2.8, 7.6 Hz, 1 H), 3.97 - 3.90 (m, 1 H), 3.16 - 3.06 (m, 3 H), 2.95 - 2.87 (m, 1 H), 2.55 (s, 3 H), 2.28 - 2.19 (m, 1 H), 2.00 - 1.94 (m, 1 H), 1.77 (br d, J=10.8 Hz, 1 H), 1.58 - 1.48 (m, 2 H)

SFC (Columna: Chiralpak AD-3 50×4.6 mm de D.I., 3 µm, eluyente: 40 % de MeOH (0.05 % de DEA) en CO₂, flujo: 3 ml/min, temp. de la columna: 35 °C, 100 bar): tR: 1.05 min (100 %)

Ejemplo 2

3-Fluoro-2-metil-5-[(3S)-2-[1-[6-(2-metilimidazol-1-il)pirimidin-4-il]piperidin-4-carbonil]isoxazolidin-3-il]benzonitrilo



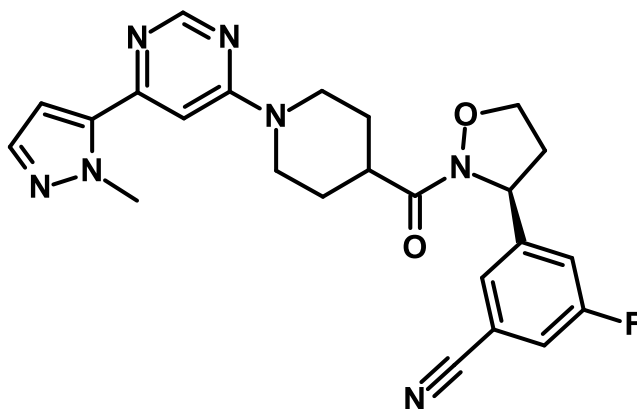
El compuesto del título se sintetizó utilizando las condiciones de acoplamiento con HATU descritas en el ejemplo 1 utilizando el Intermedio-05 y el Intermedio-03 como reactivos para obtener 10 mg (0.021 mmol, 21 % de rendimiento).

LC/MS: $m/z = 476.3$ $[M+H]^+$; tR: 1.57 min (LC/MS-método A).

^1H RMN (600.05 MHz, DMSO- d_6): δ ppm 8.48 (d, $J=0.92$ Hz, 1 H), 7.64 (d, $J=1.47$ Hz, 1 H), 7.55 (s, 1 H), 7.43 (d, $J=10.27$ Hz, 1 H), 6.90 (dd, $J=5.78$, 1.19 Hz, 2 H), 5.35 (m, 1 H), 4.48 (s a, 1 H), 4.29 (td, $J=7.70$, 7.70, 2.93 Hz, 1 H), 3.93 (m, 1 H), 3.28 (m, 1 H), 3.11 (m, 3 H), 2.89 (m, 1 H), 2.54 (s, 3 H), 2.37 (d, $J=1.83$ Hz, 3 H), 2.23 (m, 1 H), 1.96 (br d, $J=11.19$ Hz, 1 H), 1.77 (br d, $J=12.65$ Hz, 1 H), 1.53 (m, 2 H)

Ejemplo 3

3-Fluoro-5-[(3S)-2-[1-[6-(2-metilpirazol-3-il)pirimidin-4-il]piperidin-4-carbonil]isoxazolidin-3-il]benzonitrilo



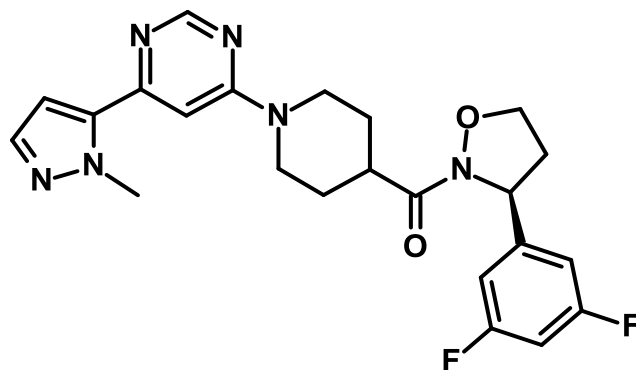
El compuesto del título se sintetizó utilizando las condiciones de acoplamiento con HATU descritas en el ejemplo 1 utilizando el Intermedio-06 y el Intermedio-01 como reactivos para obtener 240 mg (0.52 mmol, 77 % de rendimiento).

LC/MS: $m/z = 463.2$ $[M+H]^+$; tR: 0.66 min (LC/MS-método B).

^1H RMN (400.23 MHz, DMSO- d_6): δ ppm 8.57 (d, $J=0.98$ Hz, 1 H), 7.77 (d, $J=8.62$ Hz, 1 H), 7.62 (s, 1 H), 7.50 (s, 1 H), 7.48 (d, $J=1.96$ Hz, 1 H), 7.13 (s, 1 H), 6.94 (d, $J=1.96$ Hz, 1 H), 5.40 (m, 1 H), 4.49 (s a, 2 H), 4.30 (td, $J=7.67$, 7.67, 3.00 Hz, 1 H), 4.14 (s, 3 H), 3.94 (m, 1 H), 3.09 (m, 3 H), 2.91 (dddd, $J=12.18$, 9.15, 6.42, 3.06 Hz, 1 H), 2.50 (u), 2.25 (m, 1 H), 1.97 (br d, $J=10.51$ Hz, 1 H), 1.77 (br d, $J=12.84$ Hz, 1 H), 1.53 (m, 2 H)

Ejemplo 4

[(3S)-3-(3,5-Difluorofenil)isoxazolidin-2-il]-[1-[6-(2-metilpirazol-3-il)pirimidin-4-il]-4-piperidil]metanona



El compuesto del título se sintetizó utilizando las condiciones de acoplamiento con HATU descritas en el ejemplo 1 utilizando el Intermedio-06 y el Intermedio-02a como reactivos para obtener 180 mg (0.40 mmol, 57 % de rendimiento).

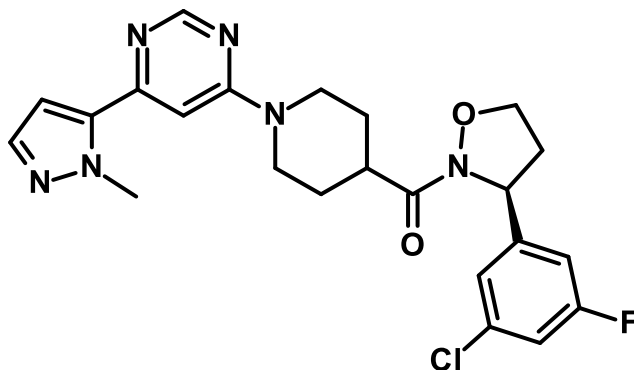
LC/MS: $m/z = 455.1$ $[M+H]^+$; t_R : 0.55 min (LC/MS-método C).

^1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$): δ ppm 8.66 (s, 1 H), 7.50 (d, $J=2.0$ Hz, 1 H), 6.86 - 6.79 (m, 2 H), 6.74 - 6.68 (m, 2 H), 6.59 (d, $J=2.0$ Hz, 1 H), 5.38 (dd, $J=6.1, 8.7$ Hz, 1 H), 4.51 - 4.39 (m, 2 H), 4.30 (dt, $J=3.2, 7.7$ Hz, 1 H), 4.22 (s, 3 H), 3.97 - 3.89 (m, 1 H), 3.17 - 3.08 (m, 3 H), 2.94 - 2.80 (m, 1 H), 2.42 - 2.27 (m, 1 H), 2.09 (br dd, $J=2.4, 13.4$ Hz, 1 H), 1.87 - 1.79 (m, 3 H)

SFC (Columna: Chiralpak OJ-3 50×4.6 mm de D.I., 3 μ m, eluyente: 5-40 % de MeOH (0.05 % de DEA) en CO_2 , flujo: 3 ml/min, temp. de la columna: 35 °C, 100 bar): t_R : 1.389 min (100 %)

Ejemplo 5

[(3S)-3-(3-Cloro-5-fluorofenil)isoxazolidin-2-il]-[1-[6-(2-metilpirazol-3-il)pirimidin-4-il]-4-piperidil]metanona



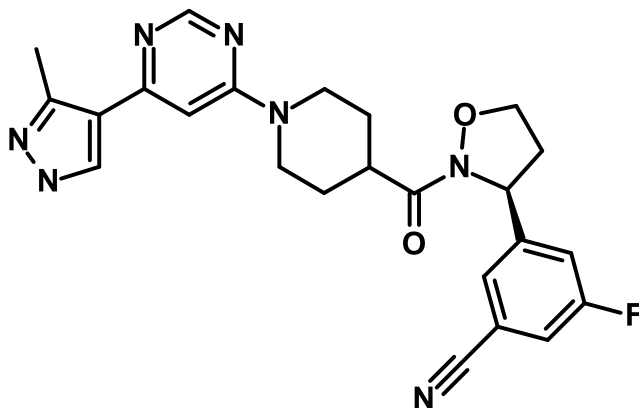
El compuesto del título se sintetizó utilizando las condiciones de
acoplamiento con HATU descritas en el ejemplo 1 utilizando el Intermedio-06 y el
Intermedio-02b como reactivos para obtener 37 mg (0.08 mmol, 78 % de
rendimiento).

LC/MS: $m/z = 471.2$ $[M+H]^+$; tR: 2.00 min (LC/MS-método A).

^1H RMN (400.23 MHz, DMSO- d_6): δ ppm 8.59 (s, 1 H), 7.50 (d, $J=1.96$ Hz, 1
H), 7.34 (dt, $J=8.68$ Hz, $J=2.08$ Hz, 1 H), 7.20 (s, 1 H), 7.15 (s, 1 H), 7.11 (br d,
 $J=9.41$ Hz, 1 H), 6.93 (d, $J=1.96$ Hz, 1 H), 5.35 (m, 1 H), 4.49 (s a, 2 H), 4.29 (m, 1
H), 4.13 (s, 3 H), 3.92 (m, 1 H), 3.11 (m, 3 H), 2.90 (m, 1 H), 2.22 (m, 1 H), 1.97 (br
d, $J=11.13$ Hz, 1 H), 1.77 (br d, $J=12.23$ Hz, 1 H), 1.53 (m, 2 H)

Ejemplo 6

3-Fluoro-5-[(3S)-2-[1-[6-(3-metil-1H-pirazol-4-il)]pirimidin-4-il]piperidin-4-
carbonil]isoxazolidin-3-il]benzonitrilo



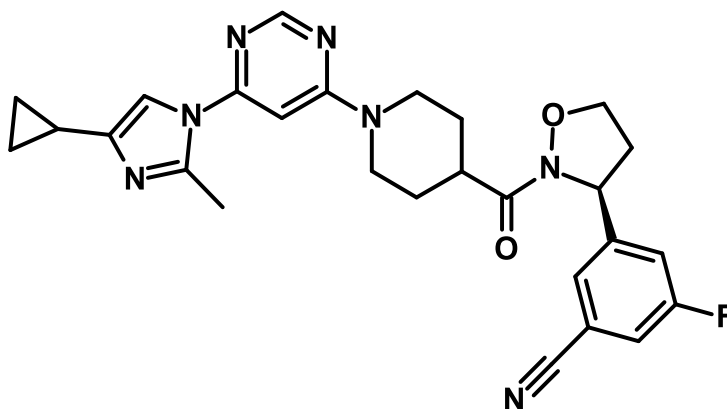
Una mezcla del Intermedio-08 (41.58 mg, 0.10 mmol, 1.0 eq.), 3-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1*H*-pirazol (38.22 mg, 0.18 mmol, 1.8 eq.), carbonato de sodio (40.28 mg, 0.38 mmol, 3.8 eq.) y complejo de dicloruro de 1,1'-bis(difenilfosfino)-ferroceno-paladio(II) y diclorometano (16.33 mg, 0.02 mmol, 0.2 eq.) en DME (3.0 ml) y agua (1 ml) se calentó hasta 100 °C con irradiación de microondas durante 30 min. La mezcla de reacción se filtró y se purificó mediante HPLC preparativa (columna: Luna(r) 5 µm C18(2) 100 Å 100×30 mm, AXIAL, eluyente: agua y acetonitrilo, gradiente: de un 10 % a un 100 % de acetonitrilo en 12 min, flujo: 50 ml/min) para obtener el compuesto del título (18 mg, 39 % de rendimiento).

LC/MS: m/z = 462.2 $[M+H]^+$; t_R : 1.34 min (LC/MS-método A).

^1H RMN (400.23 MHz, DMSO- d_6): δ ppm 8.45 (s, 1 H), 8.14 (s, 1 H), 7.77 (br d, $J=7.98$ Hz, 1 H), 7.62 (s, 1 H), 7.49 (br d, $J=9.41$ Hz, 1 H), 6.93 (s, 1 H), 5.40 (m, 1 H), 4.45 (br d, $J=9.90$ Hz, 2 H), 4.30 (td, $J=7.58, 2.81$ Hz, 1 H), 3.94 (m, 1 H), 3.09 (br d, $J=7.09$ Hz, 1 H), 3.03 (m, 2 H), 2.91 (m, 1 H), 2.27 (m, 2 H), 1.95 (br d, $J=11.37$ Hz, 1 H), 1.76 (br d, $J=11.74$ Hz, 1 H), 1.52 (m, 2 H), 1.24 (s, 3 H)

Ejemplo 7

3-[(3*S*)-2-[1-[6-(4-Ciclopropil-2-metilimidazol-1-il)pirimidin-4-il]piperidin-4-carbonil]isoxazolidin-3-il]-5-fluorobenzonitrilo



El compuesto del título se sintetizó utilizando las condiciones de acoplamiento con HATU descritas en el ejemplo 1 utilizando el Intermedio-07 y el

Intermedio-02a como reactivos para obtener 77 mg (0.23 mmol, 36 % de rendimiento).

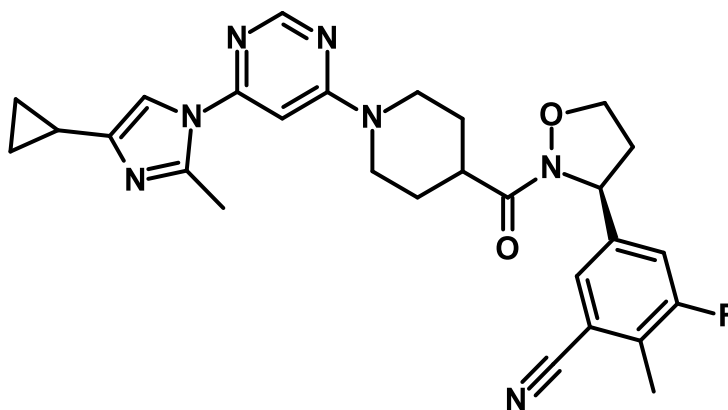
LC/MS: m/z = 502.2 $[M+H]^+$; t_R : 0.81 min (LC/MS-método C).

^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6): δ ppm 8.45 (s, 1 H), 8.13 (s, 1 H), 7.80 - 7.74 (m, 1 H), 7.62 (s, 1 H), 7.49 (br d, $J=9.5$ Hz, 1 H), 7.43 (s, 1 H), 6.84 (s, 1 H), 5.42 - 5.36 (m, 1 H), 4.54 - 4.39 (m, 2 H), 4.30 (dt, $J=2.8, 7.7$ Hz, 1 H), 3.96 - 3.90 (m, 1 H), 3.14 - 3.05 (m, 3 H), 2.95 - 2.88 (m, 1 H), 2.52 (s, 3 H), 2.27 - 2.21 (m, 1 H), 1.99 - 1.94 (m, 1 H), 1.80 - 1.73 (m, 2 H), 1.56 - 1.48 (m, 2 H), 0.80 - 0.76 (m, 2 H), 0.68 - 0.64 (m, 2 H)

SFC (Columna: Chiralpak OJ-3 50×4.6 mm de D.I., 3 μ m, eluyente: 5-40 % de MeOH (0.05 % de DEA) en CO_2 , flujo: 3 ml/min, temp. de la columna: 35 °C, 100 bar): t_R : 1.73 min (98.8 %)

Ejemplo 8

5-[(3S)-2-[1-[6-(4-Ciclopropil-2-metilimidazol-1-il)pirimidin-4-il]piperidin-4-carbonil]isoxazolidin-3-il]-3-fluoro-2-metilbenzonitrilo



El compuesto del título se sintetizó utilizando las condiciones de acoplamiento con HATU descritas en el ejemplo 1 utilizando el Intermedio-07 y el Intermedio-03 como reactivos para obtener 28 mg (0.08 mmol, 81 % de rendimiento).

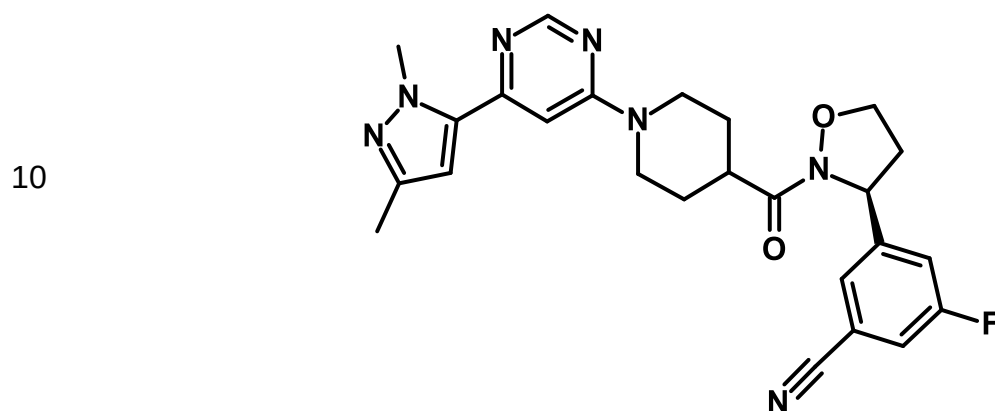
LC/MS: m/z = 516.3 $[M+H]^+$; t_R : 1.67 min (LC/MS-método A).

^1H RMN (400.23 MHz, DMSO- d_6): δ ppm 8.45 (s, 1 H), 7.55 (s, 1 H), 7.44 (m, 2 H), 6.83 (s, 1 H), 5.35 (m, 1 H), 4.47 (s a, 2 H), 4.29 (td, $J=7.64$,

7.64, 3.18 Hz, 1 H), 3.93 (m, 1 H), 3.10 (m, 3 H), 2.89 (m, 1 H), 2.50 (s, 3 H, en el pico de DMSO), 2.37 (d, J=1.71 Hz, 3 H), 2.24 (m, 1 H), 1.96 (d a, J=12.84 Hz, 1 H), 1.77 (m, 2 H), 1.52 (m, 2 H), 0.78 (m, 2 H), 0.67 (m, 2 H)

Ejemplo 9

5 3-[(3S)-2-[1-[6-(2,5-Dimetilpirazol-3-il)pirimidin-4-il]piperidin-4-carbonil]isoxazolidin-3-il]-5-fluorobenzonitrilo



Una mezcla del Intermedio-08 (100 mg, 240.47 μ mol, 1 eq.), 1,3-dimetil-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)pirazol (58.75 mg, 264.52 μ mol, 1.1 eq.), K_2CO_3 (66.47 mg, 480.95 μ mol, 2 eq.) y $Pd(dppf)Cl_2 \cdot CH_2Cl_2$ (19.64 mg, 24.05 μ mol, 0.1 eq.) en dioxano (0.8 ml) y H_2O (0.2 ml) se desgasificó y purgó con N_2 3 veces. La mezcla de reacción se agitó a 80 °C durante 2 h en atmósfera de N_2 . La mezcla de reacción se diluyó con agua (5 ml) y se extrajo con acetato de etilo (3 ml $\times$ 3). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (8 ml), se secó con Na_2SO_4 , se filtró, se concentró y se purificó mediante HPLC preparativa (columna: Phenomenex C18 75 $\times$ 30 mm, 3 μ m, eluyente: agua (0.1 % de ácido fórmico) y acetonitrilo, gradiente: de un 25 % a un 55 % de acetonitrilo en 7 min) para obtener el compuesto del título (62 mg, 130.38 μ mol, 54 % de rendimiento) como un sólido amarillo.

20

25

LC/MS: m/z = 476.3 $[M+H]^+$; tR: 0.822 min (LC/MS-método C).

^1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$): δ ppm 8.69 (s, 1 H), 7.40 (s, 1 H), 7.30 - 7.27 (m, 1 H), 7.26 (br d, J=1.4 Hz, 1 H), 6.67 (s, 1H), 6.54 (s a, 1 H), 5.41 (dd, J=6.4, 8.6 Hz, 1 H), 4.58 - 4.27 (m, 3 H), 4.14 (s, 3 H), 3.95 (dt, J=6.8, 8.7 Hz, 1 H), 3.32 -

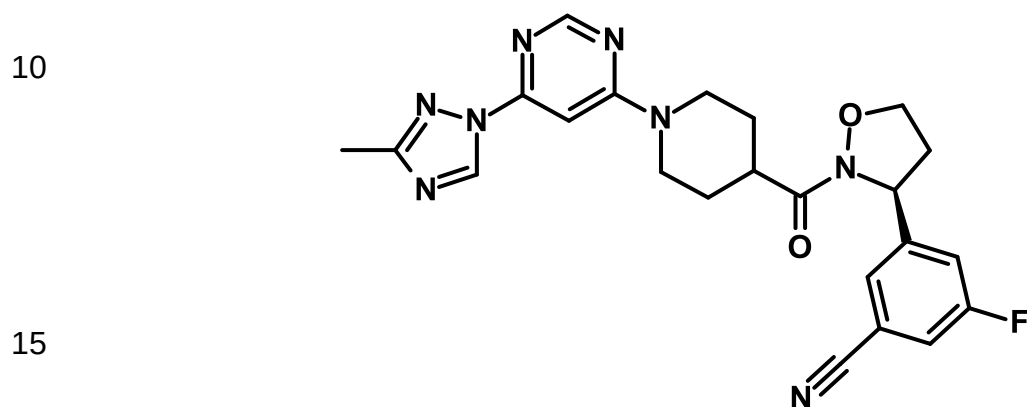
30

3.10 (m, 3 H), 2.93 (dddd, J=3.1, 6.6, 9.2, 12.2 Hz, 1 H), 2.40 - 2.32 (m, 1 H), 2.30 (s, 3 H), 2.16 - 2.08 (m, 1 H), 1.91 - 1.82 (m, 3 H)

SFC (Columna: Chiralcel OJ-3 50×4.6 mm de D.I., 3 µm, gradiente: de un 5 % a un 40 % de MeOH (0.05 % de DEA) en CO₂, flujo: 3 ml/min, temp. de la columna: 35 °C, 100 bar): tR: 1.54 min (100 %)

Ejemplo 10

3-Fluoro-5-[(3S)-2-[1-[6-(3-metil-1,2,4-triazol-1-il)pirimidin-4-il]piperidin-4-carbonil]isoxazolidin-3-il]benzonitrilo



El compuesto del título se sintetizó utilizando las condiciones de acoplamiento con HATU descritas en el ejemplo 1 utilizando el Intermedio-07 y el Intermedio-03 como reactivos para obtener 62 mg (0.13 mmol, 38 % de rendimiento).

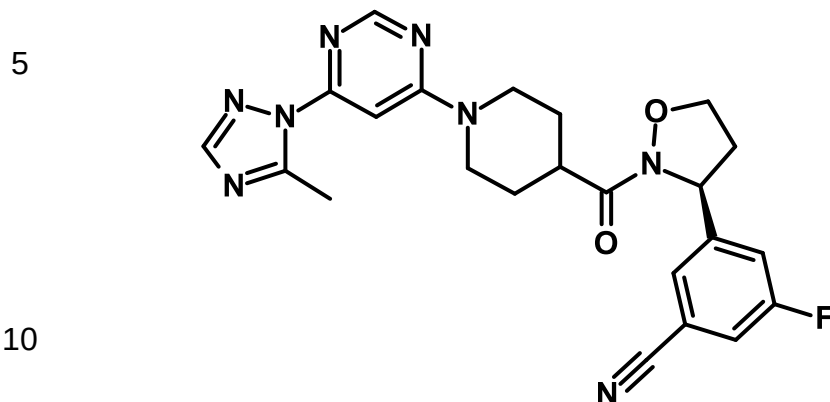
LC/MS: m/z = 463.3 [M+H]⁺; tR: 0.820 min (LC/MS-método C).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ ppm 9.20 (s, 1 H), 8.43 (s, 1 H), 7.32 (s, 1 H), 7.21 (br d, J=1.1 Hz, 1 H), 7.18 (br d, J=1.6 Hz, 1 H), 6.96 (s, 1 H), 5.34 (dd, J=8.7, 6.3 Hz, 1 H), 5.20 -5.09 (m, 1 H), 4.47 -4.34 (m, 1 H), 4.27 (td, J=7.8, 2.9 Hz, 1 H), 3.93 -3.85 (m, 1 H), 3.26 -3.14 (m, 2 H), 3.13 -3.04 (m, 1 H), 2.86 (dddd, J=12.3, 9.2, 6.4, 2.9 Hz, 1 H), 2.48 (s, 3 H), 2.33 -2.21 (m, 1 H), 2.05 (br dd, J=13.5, 3.3 Hz, 1 H), 1.88 -1.72 (m, 3 H)

SFC (Columna: Chiralcel OJ-3 50×4.6 mm de D.I., 3 µm, gradiente: de un 5 % a un 40 % de MeOH (0.05 % de DEA) en CO₂, flujo: 3 ml/min, temp. de la columna: 35 °C, 100 bar): tR: 1.418 min (100 %)

Ejemplo 11

3-Fluoro-5-[(3S)-2-[1-[6-(5-metil-1,2,4-triazol-1-il)pirimidin-4-il]piperidin-4-carbonil]isoxazolidin-3-il]benzonitrilo



El compuesto del título se sintetizó utilizando las condiciones de acoplamiento con HATU descritas en el ejemplo 1 utilizando el Intermedio-09 y el Intermedio-01 como reactivos para obtener 38 mg (0.12 mmol, 24 % de rendimiento).

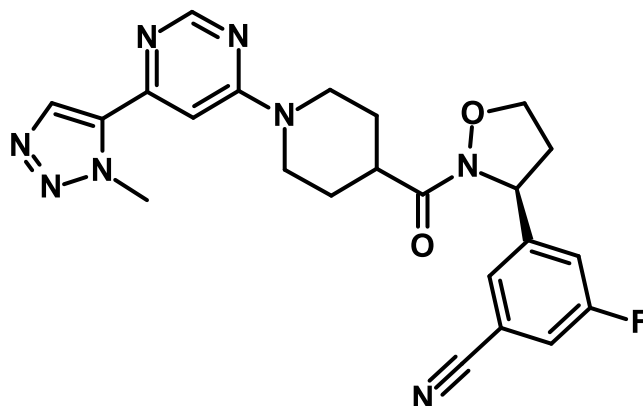
LC/MS: m/z = 463.1 [M+H]⁺; tR: 0.874 min (LC/MS-método C).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ ppm 8.52 (s, 1 H), 7.92 (s, 1 H), 7.40 (s, 1 H), 7.28 (br d, J=2.1 Hz, 1 H), 7.26 (br d, J=1.5 Hz, 1 H), 7.09 (s, 1 H), 5.41 (dd, J=6.4, 8.8 Hz, 1 H), 4.50 (br d, J=2.1 Hz, 2 H), 4.34 (dt, J=2.9, 7.9 Hz, 1 H), 3.94 (dt, J=6.7, 8.8 Hz, 1 H), 3.24 - 3.10 (m, 3 H), 2.94 (s, 3 H), 2.93 - 2.87 (m, 1 H), 2.39 - 2.29 (m, 1 H), 2.09 (br dd, J=2.7, 13.1 Hz, 1 H), 1.87 - 1.80 (m, 3 H)

SFC (Columna: Chiralcel OD-3 50×4.6 mm de D.I., 3 μm, gradiente: de un 5 % a un 40 % de MeOH (0.05 % de DEA) en CO₂, flujo: 3 ml/min, temp. de la columna: 35 °C, 100 bar): tR: 1.926 min (100 %)

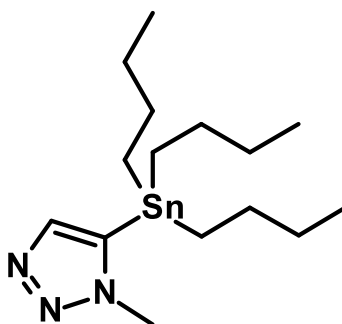
Ejemplo 12

3-Fluoro-5-[(3S)-2-[1-[6-(3-metil-1,2,4-triazol-4-il)pirimidin-4-il]piperidin-4-carbonil]isoxazolidin-3-il]benzonitrilo



Paso 1

Tributil-(3-metiltriazol-4-il)estannano



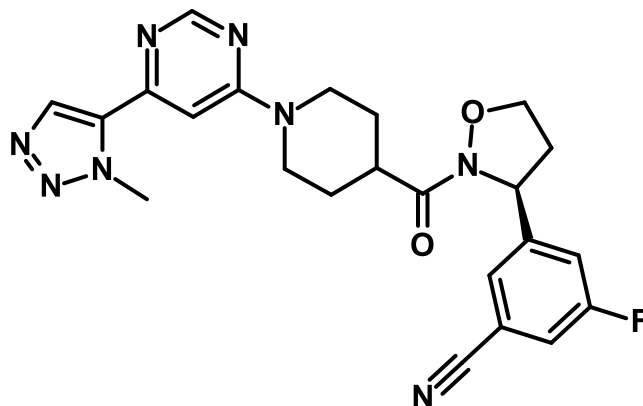
A una solución de *n*-BuLi (2.5 M, 2.41 ml, 1 eq.) en THF (5 ml) se añadió 5-metilciclohexa-1,3-dieno (566.57 mg, 6.02 mmol, 5 ml, 1 eq.) gota a gota a -70 °C, seguido de una solución de 1-metiltriazol (500 mg, 6.02 mmol, 1 eq.) en THF (2 ml) en atmósfera de N₂. La mezcla de reacción se agitó durante 1 h y se añadió tributil(cloro)estannano (1.96 g, 6.02 mmol, 1.62 ml, 1 eq.). La mezcla de reacción se calentó suavemente hasta 25 °C. Después de 10 h, la mezcla de reacción se filtró, se concentró a presión reducida y se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice (columna: columna ultrarrápida con 20 g de sílice SepaFlash®, eluyente: éter de petróleo y acetato de etilo, gradiente: de un 0 % a un 20 % de acetato de etilo, flujo: 50 ml/min) para obtener el compuesto del título (1.3 g, 3.49 mmol, 58 % de rendimiento) como un aceite incoloro.

LC/MS: *m/z* = 374.1 [M+H]⁺; tR: 0.831 min (LC/MS-método C).

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ ppm 7.61 (s, 1 H), 4.10 (s, 3 H), 1.57 - 1.49 (m, 6 H), 1.37 - 1.31 (m, 6 H), 1.21 - 1.16 (m, 6 H), 0.90 (t, $J=7.3$ Hz, 9 H)

Paso 2

3-Fluoro-5-[(3S)-2-[1-[6-(3-metiltriazol-4-il)pirimidin-4-il]piperidin-4-carbonil]isoxazolidin-3-il]benzonitrilo



Una mezcla del Intermedio-08 (100 mg, 240.47 μmol , 1 eq.), tributil-(3-metiltriazol-4-il)estannano (178.98 mg, 480.95 μmol , 2 eq.), trietilamina (48.67 mg, 480.95 μmol , 66.94 μl , 2 eq.), CuI (4.58 mg, 24.05 μmol , 0.1 eq.) y $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (27.79 mg, 24.05 μmol , 0.1 eq.) en dioxano (1 ml) se desgasificó y purgó con N_2 3 veces. La mezcla de reacción se agitó a 100 $^\circ\text{C}$ durante 12 h en atmósfera de N_2 , se desactivó mediante la adición de solución acuosa saturada de KF (3 ml), se diluyó con agua (5 ml) y se extrajo con acetato de etilo (5 ml $\times$ 3). La capa orgánica combinada se secó con Na_2SO_4 , se filtró, se concentró a presión reducida y se purificó mediante HPLC preparativa (columna: Phenomenex C18 75 $\times$ 30 mm, 3 μm , eluyente: agua (0.1 % de ácido fórmico) y acetonitrilo, gradiente: de un 28 % a un 58 % de acetonitrilo en 7 min) para obtener el compuesto del título (26 mg, 56.22 μmol , 23 % de rendimiento) como un sólido amarillo.

LC/MS: m/z = 463.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$; tR: 0.626 min (LC/MS-método C).

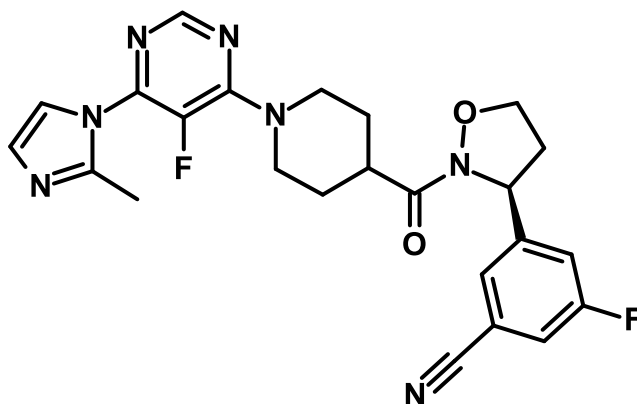
^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ ppm 8.60 (d, $J=1.0$ Hz, 1 H), 8.39 (s, 1 H), 7.80 - 7.75 (m, 1 H), 7.62 (s, 1 H), 7.49 (br d, $J=9.2$ Hz, 1 H), 7.28 (d, $J=0.9$ Hz, 1 H), 5.39 (br dd, $J=6.5, 8.1$ Hz, 1 H), 4.58 - 4.42 (m, 2 H), 4.32 (s, 3 H), 4.31 - 4.27 (m, 1 H), 3.98 - 3.89 (m, 1 H), 3.16 - 3.08 (m, 3 H), 2.91 (tdd, $J=3.1, 5.8, 8.8$ Hz, 1

H), 2.24 (dtd, J=2.0, 4.6, 9.3 Hz, 1 H), 2.01 - 1.94 (m, 1 H), 1.82 - 1.74 (m, 1 H), 1.56 - 1.47 (m, 2 H)

SFC (Columna: Chiralcel OD-3 50×4.6 mm de D.I., 3 µm, gradiente: de un 5 % a un 40 % de MeOH (0.05 % de DEA) en CO₂, flujo: 3 ml/min, temp. de la columna: 35 °C, 100 bar): tR: 2.380 min (100 %)

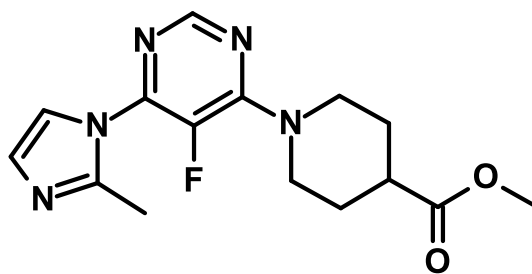
Ejemplo 13

3-Fluoro-5-[(3S)-2-[1-[5-fluoro-6-(2-metilimidazol-1-il)pirimidin-4-il]piperidin-4-carbonil]isoxazolidin-3-il]benzonitrilo



Paso 1

1-[5-Fluoro-6-(2-metilimidazol-1-il)pirimidin-4-il]piperidin-4-carboxilato de metilo



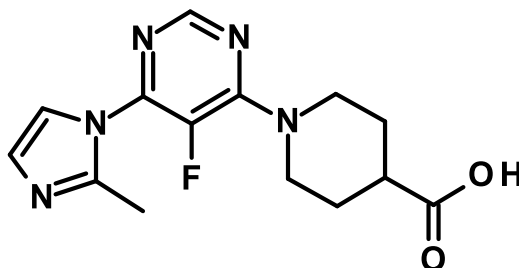
Una mezcla del Intermedio-11a (5.38 g, 19.66 mmol, 1 eq.), 2-metil-1H-imidazol (2.10 g, 25.55 mmol, 1.3 eq.), K₂CO₃ (10.87 g, 78.63 mmol, 4 eq.), CuI (1.87 g, 9.83 mmol, 0.5 eq.) en DMSO (50 ml) se desgasificó y purgó con N₂ 3 veces. La mezcla de reacción se agitó a 120 °C durante 16 h, se diluyó con H₂O (60 ml) y se extrajo con acetato de etilo (60 ml×2). La capa orgánica combinada se

secó con Na₂SO₄ anhidro, se filtró, se concentró a presión reducida y se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice (columna: columna ultrarrápida con 8 g de sílice SepaFlash®, eluyente: éter de petróleo y acetato de etilo, gradiente: de un 0 % a un 80 % de acetato de etilo, flujo: 40 ml/min) para obtener el compuesto del título (6 g, 17.85 mmol, 91 % de rendimiento) como un sólido blanco.

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ ppm 8.30 (d, J=1.3 Hz, 1 H), 7.18 - 7.10 (m, 1 H), 7.02 (s, 1 H), 4.52 - 4.40 (m, 2 H), 3.75 - 3.65 (m, 3 H), 3.32 - 3.17 (m, 2 H), 2.71 - 2.64 (m, 2 H), 2.49 (s, 3 H), 2.05 (br d, J=3.5 Hz, 1 H), 1.89 - 1.77 (m, 2 H)

Paso 2

Ácido 1-[5-fluoro-6-(2-metilimidazol-1-il)pirimidin-4-il]piperidin-4-carboxílico



A una solución de 1-[5-fluoro-6-(2-metilimidazol-1-il)pirimidin-4-il]piperidin-4-carboxilato de metilo (3 g, 9.39 mmol, 1 eq.) en THF (24 ml) se añadieron LiOH·H₂O (1.58 g, 37.58 mmol, 4 eq.) y H₂O (6 ml). La mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 2 h, se diluyó con H₂O (60 ml) y se extrajo con acetato de etilo (60 ml×2). La capa orgánica combinada se secó con Na₂SO₄ anhidro, se filtró, se concentró a presión reducida y se purificó mediante HPLC de fase inversa (columna: columna ultrarrápida con 330 g Welch Ultimate XB_C18, 20-40 μm, 120 Å, eluyente: agua (0.1 % de ácido fórmico) y acetonitrilo, gradiente: de un 0 % a un 25 % de acetonitrilo en 15 min, un 25 % de acetonitrilo durante 10 min, flujo: 100 ml/min) para obtener el compuesto del título (1.4 g, 4.58 mmol, 49 % de rendimiento) como un sólido blanco.

LC/MS: m/z = 306.2 [M+H]⁺; tR: 0.226 min (LC/MS-método C).

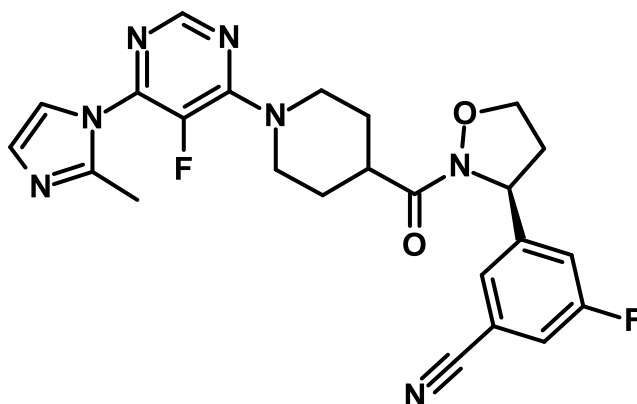
¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ ppm 12.49 - 12.14 (m, 1 H), 8.36 (d, J=1.4

Hz, 1 H), 7.47 (dd, J=1.6, 2.4 Hz, 1 H), 7.04 (d, J=1.5 Hz, 1 H), 4.34 (br d, J=13.4 Hz, 2 H), 3.27 - 3.21 (m, 2 H), 2.64 - 2.61 (m, 1 H), 2.40 (s, 3 H), 1.97 - 1.91 (m, 2 H), 1.69 - 1.61 (m, 2 H)

Paso 3

5 3-Fluoro-5-[(3S)-2-[1-[5-fluoro-6-(2-metilimidazol-1-il)]pirimidin-4-il]piperidin-4-carbonil]isoxazolidin-3-il]benzonitrilo

10



15

El compuesto del título se sintetizó utilizando las condiciones de acoplamiento con HATU descritas en el ejemplo 1 utilizando ácido 1-[5-fluoro-6-(2-metilimidazol-1-il)]pirimidin-4-il]piperidin-4-carboxílico (paso 2) y el Intermedio-01 como reactivos para obtener 112 mg (228.7 μ mol, 78 % de rendimiento) como un sólido amarillo.

20

LC/MS: m/z = 480.1 [M+H]⁺; tR: 0.512 min (LC/MS-método C).

25

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ ppm 8.33 (d, J=1.5 Hz, 1 H), 7.40 (s, 1 H), 7.34 (s, 1 H), 7.28 (s a, 2 H), 7.26 (s a, 1 H), 5.42 (dd, J=6.4, 8.7 Hz, 1 H), 4.62 (br d, J=13.3 Hz, 2 H), 4.34 (dt, J=2.9, 7.8 Hz, 1 H), 4.02 - 3.91 (m, 1 H), 3.34 - 3.28 (m, 2 H), 3.22 - 3.13 (m, 1 H), 2.95 (dddd, J=3.0, 6.4, 9.2, 12.3 Hz, 1 H), 2.68 (s, 3 H), 2.40 - 2.28 (m, 1 H), 2.13 (br dd, J=3.2, 13.6 Hz, 1 H), 1.93 - 1.85 (m, 3 H)

SFC (Columna: Chiralcel OJ-3 50×4.6 mm de D.I., 3 μ m, gradiente: de un 5 % a un 40 % de MeOH (0.05 % de DEA) en CO₂, flujo: 3 ml/min, temp. de la columna: 35 °C, 100 bar): tR: 1.294 min (100 %)

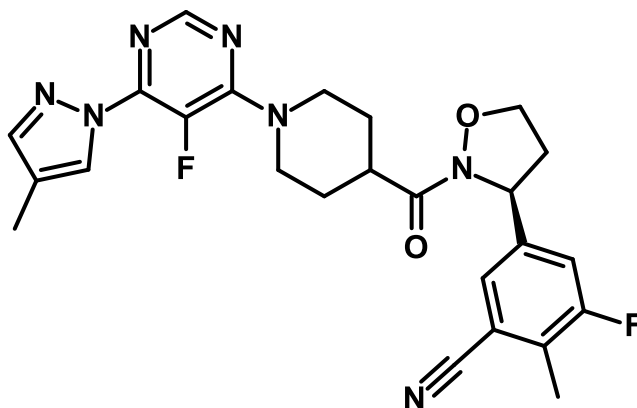
30

Ejemplo 14

3-Fluoro-5-[(3*S*)-2-[1-[5-fluoro-6-(4-metilpirazol-1-il)]pirimidin-4-il]piperidin-4-carbonil]isoxazolidin-3-il]-2-metilbenzonitrilo

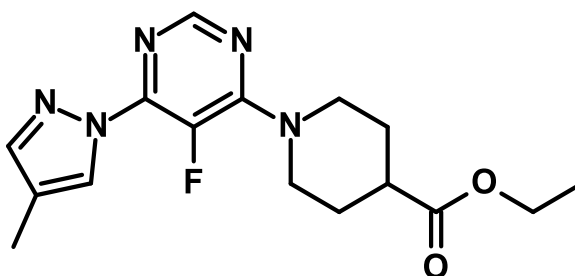
5

10

**Paso 1**

1-[5-Fluoro-6-(4-metilpirazol-1-il)]pirimidin-4-il]piperidin-4-carboxilato de etilo

15



20

25

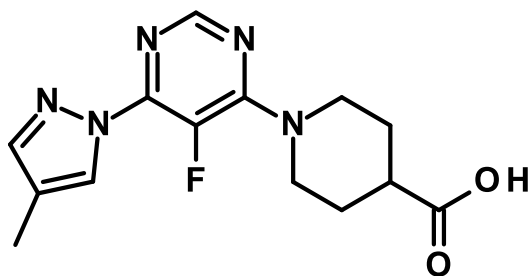
Una mezcla del Intermedio-11b (300 mg, 1.04 mmol, 1 eq.), 4-metil-1*H*-pirazol (171.22 mg, 0.168 ml, 2.085 mmol, 2.0 eq.), carbonato de potasio (576.42 mg, 4.171 mmol, 4.0 eq.) y yoduro de cobre(I) (99.3 mg, 0.521 mmol, 0.5 eq.) en DMSO (1.5 ml) se agitó a 120 °C con irradiación de microondas durante 4 h. La mezcla de reacción se diluyó con agua y acetato de etilo, y se filtró. El filtrado se evaporó a presión reducida para obtener el compuesto del título (294 mg, 0.75 mmol, 72 % de rendimiento), que se utilizó directamente en el siguiente paso.

Paso 2

Ácido 1-[5-fluoro-6-(4-metilpirazol-1-il)]pirimidin-4-il]piperidin-4-carboxílico

30

5



10

15

Una solución del producto bruto del paso 1 (294 mg, 0.75 mmol, 1 eq.) en NaOH (2 N en agua/THF/MeOH = 1/1/1, 5.7 ml, 3.75 mmol, 5 eq.) se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. La mezcla de reacción se acidificó con H₂SO₄ 1 N y se extrajo tres veces con acetato de etilo. La capa orgánica combinada se secó con Na₂SO₄, se filtró, se evaporó y se purificó mediante HPLC preparativa (columna: YMC-Actus Triart Prep C18-S 250×30 mm, 5-10 μm, eluyente: agua (0.05 % de TFA) y acetonitrilo, gradiente: de un 5 % a un 100 % de acetonitrilo en 24 min, flujo: 70 ml/min) para obtener el compuesto del título (156 mg, 68 % de rendimiento).

LC/MS: m/z = 306.1 [M+H]⁺; tR: 1.61 min (LC/MS-método A).

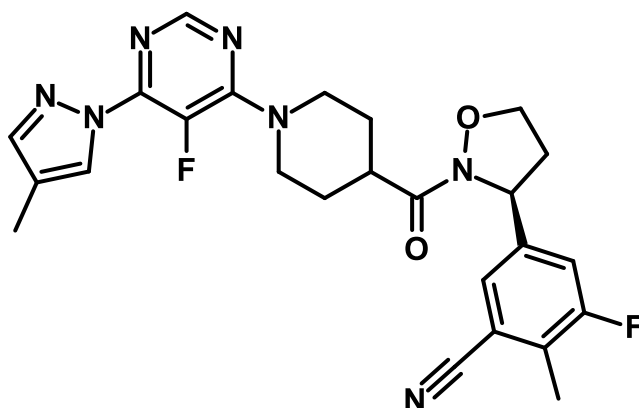
¹H RMN (400.23 MHz, DMSO-d₆): δ ppm 12.28 (s a, 1 H), 8.26 (d, J=1.47 Hz, 1 H), 8.23 (s, 1 H), 7.71 (s, 1 H), 4.29 (br d, J=13.45 Hz, 2 H), 3.25 (m, 2 H), 2.61 (m, 1 H), 2.10 (s, 3 H), 1.93 (br dd, J=13.20, 3.30 Hz, 2 H), 1.63 (m, 2 H)

20

Paso 3

3-Fluoro-5-[(3S)-2-[1-[5-fluoro-6-(4-metilpirazol-1-il)]pirimidin-4-il]piperidin-4-carbonil]isoxazolidin-3-il]-2-metilbenzonitrilo

25



30

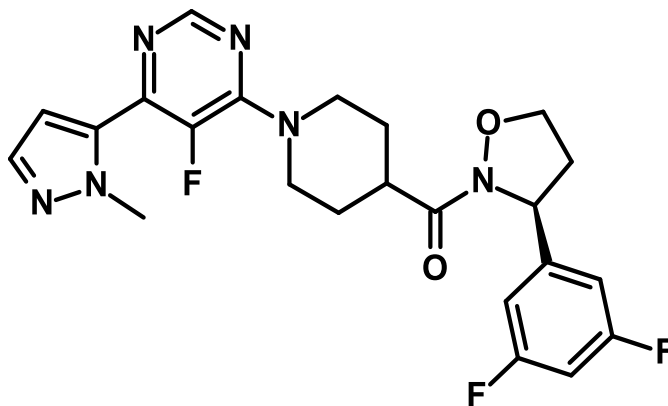
El compuesto del título se sintetizó utilizando las condiciones de acoplamiento con HATU descritas en el ejemplo 1 utilizando el compuesto del paso 2 y el Intermedio-03 como reactivos para obtener 36 mg (0.072 mmol, 72 % de rendimiento).

5 LC/MS: m/z = 494.2 $[M+H]^+$; tR: 2.40 min (LC/MS-método A).

^1H RMN (400.23 MHz, DMSO- d_6): δ ppm 8.26 (d, $J=1.47$ Hz, 1 H), 8.23 (s, 1 H), 7.70 (s, 1 H), 7.56 (s, 1 H), 7.43 (d, $J=10.27$ Hz, 1 H), 5.35 (m, 1 H), 4.40 (m, 2 H), 4.29 (m, 1 H), 3.93 (m, 1 H), 3.24 (m, 2 H), 3.13 (s, 1 H), 2.88 (m, 1 H), 2.37 (d, $J=1.83$ Hz, 3 H), 2.23 (m, 1 H), 2.10 (s, 3 H), 1.98 (br d, $J=11.74$ Hz, 1 H), 1.80 (m, 1 H), 1.64 (m, 2 H)

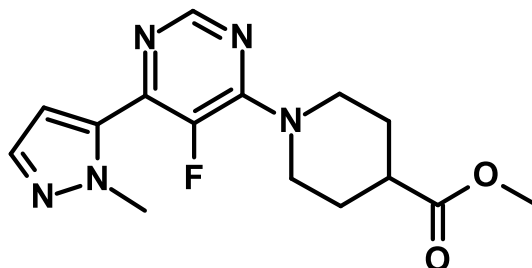
Ejemplo 15

[(3S)-3-(3,5-Difluorofenil)isoxazolidin-2-il]-[1-[5-fluoro-6-(2-metilpirazol-3-il)pirimidin-4-il]-4-piperidil]metanona



Paso 1

1-[5-Fluoro-6-(2-metilpirazol-3-il)pirimidin-4-il]piperidin-4-carboxilato de metilo



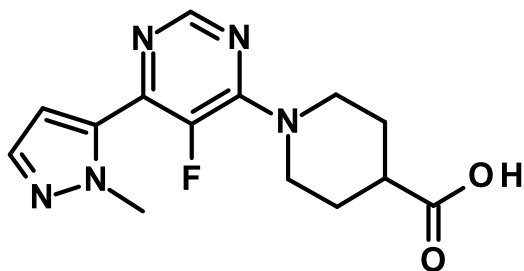
A una solución del Intermedio-11a (1.4 g, 5.12 mmol, 1 eq.) en dioxano (16 ml) y H₂O (4 ml) se añadieron K₂CO₃ (1.41 g, 10.23 mmol, 2 eq.), Pd(dppf)Cl₂ (374.29 mg, 511.53 µmol, 0.1 eq.) y 1-metil-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)pirazol (1.17 g, 5.63 mmol, 1.1 eq.). La mezcla se agitó a 80 °C durante 12 h, se diluyó con H₂O (30 ml) y se extrajo con acetato de etilo (30 ml×2). La capa orgánica combinada se secó con Na₂SO₄, se filtró, se concentró a presión reducida y se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice (columna: columna ultrarrápida con 4 g de sílice SepaFlash®, eluyente: éter de petróleo y acetato de etilo, gradiente: de un 0 % a un 30 % de acetato de etilo, flujo: 50 ml/min) para obtener el compuesto del título (1.66 g, 4.05 mmol, 79 % de rendimiento) como un sólido blanco.

LC/MS: m/z = 320.12 [M+H]⁺; t_R: 0.875 min (LC/MS-método C).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ ppm 8.44 (d, J=2.3 Hz, 1 H), 7.56 (d, J=2.0 Hz, 1 H), 6.73 (dd, J=2.1, 3.9 Hz, 1 H), 4.46 (td, J=3.4, 13.7 Hz, 2 H), 4.19 (s, 3 H), 3.83 (s, 1 H), 3.72 (s, 3 H), 3.32 - 3.18 (m, 2 H), 2.67 (s, 1 H), 2.03 - 2.01 (m, 1 H), 1.86 - 1.79 (m, 2 H)

Paso 2

Ácido 1-[5-fluoro-6-(2-metilpirazol-3-il)pirimidin-4-il]piperidin-4-carboxílico



A una solución de 1-[5-fluoro-6-(2-metilpirazol-3-il)pirimidin-4-il]piperidin-4-carboxilato de metilo (1.16 g, 2.83 mmol, 1 eq.) en THF (8 ml) y H₂O (2 ml) se añadió LiOH·H₂O (237.80 mg, 5.67 mmol, 2 eq.). La mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 2 h, el pH se ajustó a 3 con solución de HCl 1 N y se eliminó el THF a presión reducida. La mezcla se filtró y la torta del filtro se lavó con solución de

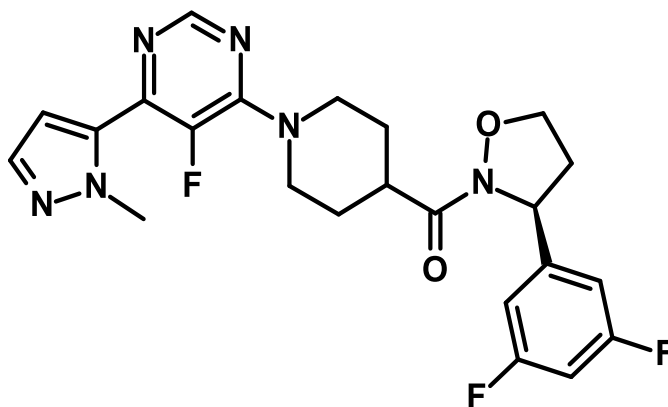
HCl 1 N para obtener el título (380 mg, 1.24 mmol, 44 % de rendimiento) como un sólido blanco.

LC/MS: $m/z = 306.1$ $[M+H]^+$; tR: 0.899 min (LC/MS-método C).

^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6): δ ppm 8.44 (d, $J=2.5$ Hz, 1 H), 7.56 (d, $J=2.0$ Hz, 1 H), 6.72 (dd, $J=2.0, 3.8$ Hz, 1 H), 4.44 - 4.21 (m, 2 H), 4.05 (s, 3 H), 3.21 - 3.16 (m, 2 H), 2.64 - 2.54 (m, 2 H), 1.93 (br dd, $J=3.3, 13.3$ Hz, 2 H), 1.68 - 1.57 (m, 2 H)

Paso 3

[(3S)-3-(3,5-Difluorofenil)isoxazolidin-2-il]-[1-[5-fluoro-6-(2-metilpirazol-3-il)pirimidin-4-il]-4-piperidil]metanona



El compuesto del título se sintetizó utilizando las condiciones de acoplamiento con HATU descritas en el ejemplo 1 utilizando el Intermedio-11a y el Intermedio-01 como reactivos para obtener 120 mg (0.25 mmol, 78 % de rendimiento).

LC/MS: $m/z = 473.1$ $[M+H]^+$; tR: 0.942 min (LC/MS-método C).

^1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$): δ ppm 8.43 (s, 1 H), 7.57 (d, $J=1.7$ Hz, 1 H), 6.87 - 6.79 (m, 2 H), 6.77 - 6.67 (m, 2 H), 5.38 (dd, $J=6.3, 8.7$ Hz, 1 H), 4.70 - 4.47 (m, 2 H), 4.30 (dt, $J=3.2, 7.7$ Hz, 1 H), 4.17 (s, 3 H), 4.01 - 3.87 (m, 1 H), 3.35 - 3.21 (m, 2 H), 3.19 - 3.07 (m, 1 H), 2.93 - 2.81 (m, 1 H), 2.40 - 2.29 (m, 1 H), 2.17 - 2.06 (m, 1 H), 2.00 - 1.88 (m, 3 H)

SFC: (Columna: Chiralcel OD 50×4.6 mm de D.I., 3 μ m, gradiente: de un 5

% a un 40 % de MeOH (0.05 % de DEA) en CO₂, flujo: 3 ml/min, temp. de la columna: 35 °C, 100 bar): tR: 1.581 min (100 %)

Evaluación de la inhibición de la proteína··cinasa 1 que interacciona con receptores

5 La actividad catalítica de RIPK1 se midió monitorizando la conversión del trifosfato de adenosina (ATP) en difosfato de adenosina (ADP) por autofosforilación utilizando un kit de cinasas ADP-Glo (Promega, n.º de catálogo V9104).

10 En concreto, se incubaron 2 µl de proteína de fusión hRIPK1 (aa 1-375) producida de forma recombinante (concentración final de 3.6 µg/ml) y 2 µl de compuesto (concentración final de 33300 – 1.69 nM; concentración final de DMSO del 1 %) durante 30 minutos a temperatura ambiente, y después se añadieron 2 µl de ATP (kit ADP-Glo, concentración final de 50 µM). Después de otros 240 minutos de incubación a temperatura ambiente, se añadieron 5 µl del reactivo I de ADP-Glo de Promega para desactivar la reacción y eliminar el ATP no consumido. 15 Después de un período de incubación de 30 minutos, se añadieron 10 µl de reactivo de detección II de ADP-Glo de Promega, lo que dio como resultado la conversión de ADP en ATP, lo que genera una reacción luminosa entre la luciferasa y la luciferina. Se cuantificó la luminiscencia después de 30 minutos con un instrumento Pherastar FS (BMG LABTECH, Ortenberg). 20

 Para los experimentos de dosis-respuesta, se calculó un valor de CI₅₀ con un intervalo de confianza de un 95 %, utilizando el modelo logístico de 4 parámetros de acuerdo con Ratkowsky y Reedy que restringe las asíntotas inferior y superior a un 0 % y un 100 %. El ajuste se obtuvo mediante regresión no lineal 25 utilizando el algoritmo de Levenberg Marquardt.

Ensayo celular en células U937 para medir la actividad de los inhibidores de RIPK1 sobre la muerte celular (necroptosis).

 Tras la fijación al receptor I de TNF, la Ser/Thr··cinasa RIPK1 es captada por el complejo I del receptor transitorio. Tras la modificación de RIPK1 que 30 promueve la activación de RIPK1, se puede formar el complejo IIb, que implica la

captación de RIPK3 y MLKL (proteína similar a dominio de cinasa de linaje mixto) que a continuación se traslada desde el citosol hasta la membrana plasmática para ejecutar la muerte celular (Cai, Z. *et al.*, *Nat. Cell Biol.* (2014)16:55-65).

La muerte celular se cuantificó en placas de 96 pocillos mediante la
 5 determinación de la cantidad de células vivas utilizando un reactivo CellTiter 96 AQueous (Promega), un método calorimétrico para medir la cantidad de células vivas mediante la reducción de un compuesto de tetrazolio [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-carboximetoxifenil)-2-(4-sulfofenil)-2*H*-tetrazolio, sal interna; MTS] para obtener formazán. La absorbancia del formazán se midió a 490 nm. La actividad
 10 inhibidora del compuesto de prueba se cuantificó en un experimento de curva de concentración-respuesta (CCR).

Los compuestos se obtuvieron como soluciones madre 10 mM y se diluyeron de 1 a 10 volúmenes con DMSO para proporcionar una solución 1 mM. A partir de esta solución, se diluyeron 2 µl con 998 µl de medio de crecimiento. Se
 15 diluyeron adicionalmente 100 µl de una solución de compuesto 2 µM de forma secuencial con un factor de dilución de 2.5 añadiendo 150 µl de medio de crecimiento. Se evaluaron un total de 10 concentraciones que oscilaron de 10 µM a 0.26 nM o de 1 µM a 0.07 nM.

Se cultivaron células U937 en RPMI1640 Glutamax y un 10 % de FBS
 20 inactivado por calor. En cada pocillo de una placa de 96 pocillos, se dispensaron 50 µl de una suspensión celular que contenía 1×10^6 células/ml suplementada con zVAD.fmk (benciloxycarbonil-Val-Ala-Asp (OMe) fluorometilcetona) 50 µM y 100 ng/ml de TNFα humano recombinante. Se añadieron 50 µl de las diluciones de compuesto (véanse más arriba) y la suspensión celular se incubó durante la noche
 25 (de 18 a 24 h) a 37 °C con un 5 % de CO₂ en una atmósfera humidificada (95 % de Hr). Se evaluaron un control alto (sin compuesto) y uno bajo (sin TNFα, zVAD.fmk) con 7 réplicas; todas las concentraciones de compuesto se evaluaron por duplicado en cada placa experimental.

Se mezcló el reactivo CellTiter 96 Aqueous (100 µl de solución de PMS
 30 (metosulfato de fenazina)/2 ml de solución de MTS (3-(4,5-dimetildiazol-2-il)-5-(3-

carboximetoxifenil)-2-(4-sulfofenil)-2*H*-tetrazolio, sal interna)) y se añadieron 20 μ l por pocillo. Después de 4 h de incubación a 37 °C (5 % de CO₂, 95 % de Hr), se midió la densidad óptica a 490 nm en un lector de microplacas (Tecan Infinite M1000).

- 5 El % de inhibición se expresa como el porcentaje del valor de inhibición máxima que se obtiene en ausencia de TNF α /zVAD.fmc. Para cada experimento de dosis-respuesta, se calculó un valor de CI₅₀ con un intervalo de confianza de un 95 %, utilizando el modelo logístico de 4 parámetros de acuerdo con Ratkowsky y Reedy sin restricciones utilizando una aplicación interna (Biost@t-Speed LTS V2.3).

Los resultados de la actividad biológica se muestran en la Tabla 1 (CI₅₀ de ADP-Glo (μ M) y CI₅₀ de U937 (μ M))

Tabla 1

Ejemplo	CI ₅₀ de ADP-Glo [μ M]	CI ₅₀ de U937 [μ M]
A	0.0410	0.0080
B	0.0164	0.0094
C	0.0370	0.0590
D	0.0310	0.0920
E	0.0350	0.1970
1	0.0158	0.0059
2	0.0121	0.0038
3	0.0088	0.0081
4	0.0250	0.0050
5	0.0130	0.0030
6	0.0178	0.0117
7	0.0041	0.0036
8	0.0059	0.0010
9	0.0070	0.015

5

10	0.0081	0.0020
11	0.0099	0.0093
12	0.0130	0.0070
13	0.0149	0.0043
14	0.0185	0.0034
15	0.0090	0.0004

Se hace constar que con relación a esta fecha, el mejor método conocido por la solicitante para llevar a la práctica la citada invención, es el que resulta claro de la presente descripción de la invención.

10

15

20

25

30