

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 987 748**

51 Int. Cl.:

C07D 487/04 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

A61P 17/06 (2006.01)

A61P 37/00 (2006.01)

A61K 31/519 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **05.02.2021** **PCT/US2021/016737**

87 Fecha y número de publicación internacional: **19.08.2021** **WO21162942**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.02.2021** **E 21709238 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.05.2024** **EP 4103565**

54 Título: **Compuestos de 7-(metilamino)pirazolo[1,5-A]pirimidina-3-carboxamida**

30 Prioridad:

12.02.2020 US 202062975257 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

18.11.2024

73 Titular/es:

ELI LILLY AND COMPANY (100.0%)
Lilly Corporate Center
Indianapolis, IN 46285, US

72 Inventor/es:

BLEISCH, THOMAS JOHN;
CHEN, ZHAOGEN y
JESSOP, THEODORE CURTIS

74 Agente/Representante:

GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo

ES 2 987 748 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Compuestos de 7-(metilamino)pirazolo[1,5-A]pirimidina-3-carboxamida

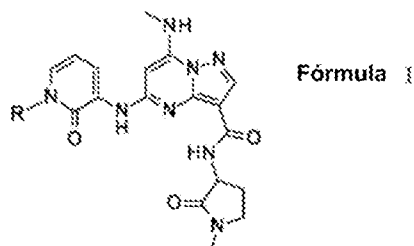
La presente invención se refiere a nuevos compuestos que se unen al dominio pseudocinasa (JH2) de TYK2 e inhiben determinadas vías de transducción de señales de citocinas, en concreto la transducción de señales de IL-23 e IFN α , a composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos, a procedimientos de uso de los compuestos para tratar determinadas enfermedades autoinmunitarias, y a intermedios y procedimientos útiles en la síntesis de los compuestos.

Se cree que la psoriasis y otras enfermedades autoinmunitarias, tales como la diabetes, están mediadas por la transducción de señales por TYK2 de determinadas citocinas proinflamatorias (véase, por ejemplo, J.S. Tokarski, *et al.*, J. Biol. Chem., vol. 290(17), págs. 11061-11074 (2015); y L. Marroqui, *et al.*, Diabetes, vol. 64, págs. 3808-3817 (2015)). La psoriasis es una enfermedad crónica de la piel, que se calcula que afecta aproximadamente al 2% de la población general. Las opciones de tratamiento para la psoriasis incluyen, por ejemplo, tratamientos tópicos, tales como los corticosteroides, la fototerapia, tal como la luz ultravioleta B (UVB), y los tratamientos sistémicos, tales como el metotrexato y el apremilast. Desgraciadamente, estos agentes no siempre proporcionan un tratamiento eficaz y pueden asociarse a diversos efectos secundarios adversos.

El documento US 2019/0031664 A1 divulga determinadas pirazolo[1,5-a]pirimidinas sustituidas útiles para tratar diversos trastornos inflamatorios y autoinmunitarios mediante la inhibición de TYK2. La patente de EE. UU. n.º 7 557 110 divulga determinados derivados de pirazolo[1,5-a]pirimidina como inhibidores de cinasas útiles para tratar trastornos mediados por cinasas, tales como enfermedades inflamatorias y enfermedades autoinmunitarias.

Existe la necesidad de tratamientos alternativos para las enfermedades autoinmunitarias, tales como la psoriasis, el lupus eritematoso sistémico (LES) y la diabetes. En concreto, se necesitan compuestos que se unan al dominio JH2 de TYK2. Además, se necesitan compuestos que se unan al dominio JH2 de TYK2 e inhiban la transducción de señales de IL-23 e IFN α .

Por consiguiente, en una realización, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula I:

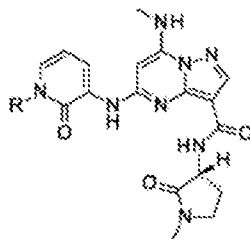


en la que R es



o una sal aceptable para uso farmacéutico del mismo.

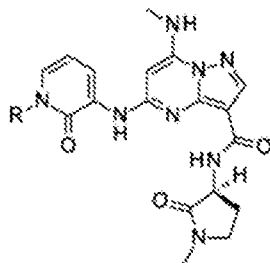
En una realización concreta, el compuesto tiene la fórmula la:



Fórmula 1a

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

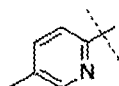
En una realización concreta, el compuesto tiene la fórmula Ib:



Fórmula Ib

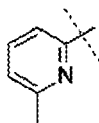
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5 En una realización, R es:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una realización, R es:



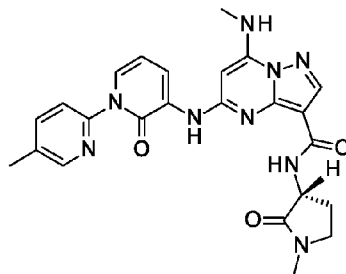
10 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una realización, R es:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

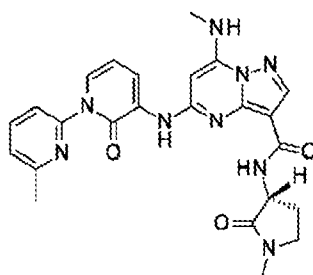
En una realización, el compuesto es:



15

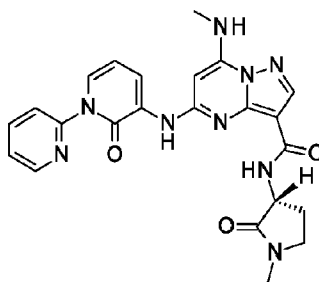
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una realización, el compuesto es:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una realización, el compuesto es:



5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una realización, la presente divulgación proporciona además un procedimiento (no reivindicado) de tratamiento de la psoriasis en un paciente que necesita dicho tratamiento, que comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una realización, la presente divulgación proporciona además un procedimiento (no reivindicado) de tratamiento del LES en un paciente que necesita dicho tratamiento, que comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una realización, la presente divulgación proporciona además un procedimiento (no reivindicado) de tratamiento de una enfermedad seleccionada del grupo que consiste en enfermedad inflamatoria intestinal, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, artritis psoriásica, artritis reumatoide (AR), alopecia areata, dermatitis atópica, espondiloartritis axial, esclerosis múltiple (EM), diabetes de tipo 1, diabetes de tipo 2 y diabetes autoinmunitaria latente del adulto (DALA) en un paciente que necesita dicho tratamiento, que comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización, la presente invención proporciona un compuesto de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en terapia. En una realización, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de la psoriasis. En una realización, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento del LES. En una realización, la presente invención proporciona además un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de una enfermedad seleccionada del grupo que consiste en enfermedad inflamatoria intestinal, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, artritis psoriásica, AR, alopecia areata, dermatitis atópica, espondiloartritis axial, EM, diabetes de tipo 1, diabetes de tipo 2 y DALA.

En una realización, la presente invención proporciona además el uso de un compuesto de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la fabricación de un medicamento para tratar la psoriasis. En una realización, la presente invención proporciona el uso de un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la fabricación de un medicamento para tratar el LES. En una realización, la presente invención proporciona además el uso de un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la fabricación de un medicamento para tratar una enfermedad seleccionada del grupo que consiste en enfermedad inflamatoria intestinal, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, artritis psoriásica, AR, alopecia areata, dermatitis atópica, espondiloartritis axial, EM, diabetes de tipo 1, diabetes de tipo 2 y DALA.

En una realización, la presente invención proporciona además una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, con uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables. En una realización, la presente invención proporciona además un procedimiento para preparar una composición farmacéutica, que comprende mezclar un compuesto de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, con uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables. En una realización, la invención presente también abarca intermedios y procedimientos nuevos para la síntesis de compuestos de fórmula I.

Tal como se utilizan en la presente memoria descriptiva, los términos "tratar" o "tratamiento" incluyen frenar, ralentizar, detener o invertir la progresión o la gravedad de un síntoma o trastorno existente.

Tal como se utiliza en la presente memoria descriptiva, el término "paciente" se refiere a un mamífero, en especial a un ser humano.

- 5 Tal como se utiliza en la presente memoria descriptiva, la expresión "cantidad eficaz" se refiere a la cantidad o dosis del compuesto de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo que, tras la administración de dosis única o múltiple al paciente, proporciona el efecto deseado en el paciente sometido a diagnóstico o tratamiento.

10 Un experto en la materia puede determinar una cantidad eficaz utilizando técnicas conocidas y observando los resultados obtenidos en circunstancias análogas. A la hora de determinar la cantidad eficaz para un paciente, el profesional que realiza el diagnóstico debe tener en cuenta un número de factores, entre los que se incluyen: la especie de paciente; su tamaño, edad y estado general de salud; la enfermedad o trastorno específico implicado; el grado de afectación o la gravedad de la enfermedad o trastorno; la respuesta de cada paciente; el compuesto concreto administrado; el modo de administración; las características de biodisponibilidad del preparado administrado; la pauta posológica seleccionada; el uso de medicación concomitante; y otras circunstancias pertinentes.

15 Los compuestos de la presente invención se formulan como composiciones farmacéuticas administradas por cualquier vía que haga que el compuesto sea biodisponible. Lo más preferente es que dichas composiciones sean para administración oral. Dichas composiciones farmacéuticas y los procedimientos para prepararlas son muy conocidos en la técnica (véase, por ejemplo, *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, L.V. Allen, Editor, 22ª edición, Pharmaceutical Press, 2012).

20 Los compuestos de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, son especialmente útiles en los procedimientos de tratamiento de la invención, contemplándose dentro del alcance de la invención todas las configuraciones, incluidos los enantiómeros, y mezclas de los mismos, incluidos los racematos. Se entiende que estas configuraciones son aplicables tanto a los procedimientos de tratamiento como a los compuestos de la invención.

25 Determinados intermedios descritos en las siguientes preparaciones pueden contener uno o más grupos protectores de nitrógeno. Se entiende que los grupos protectores pueden variarse según aprecie un experto en la materia en función de las condiciones concretas de reacción y de las transformaciones concretas que deban realizarse. Las condiciones de protección y desprotección son muy conocidas por los expertos y se describen en la bibliografía (véase, por ejemplo, *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, cuarta edición, por Peter G.M. Wuts y Theodora W. Greene, John Wiley and Hijos, Inc. 2007).

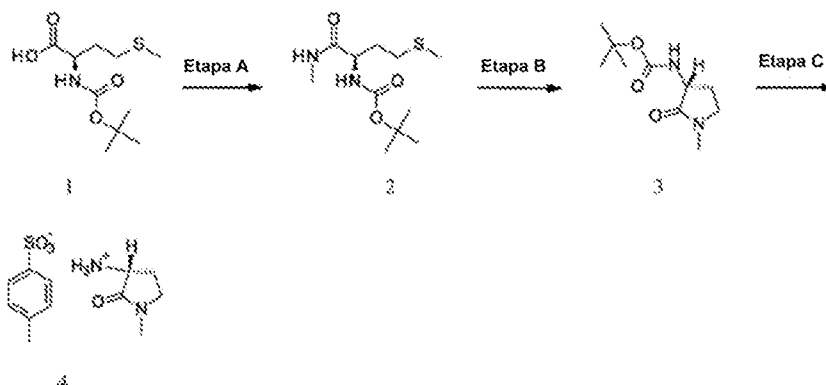
30 Un experto en la materia puede separar o resolver los isómeros individuales, incluidos los enantiómeros, en cualquier punto conveniente de la síntesis de los compuestos de la invención, por procedimientos tales como las técnicas de cristalización selectiva o la cromatografía quiral (véase, por ejemplo, J. Jacques, *et al.*, "Enantiomers, Racemates, and Resolutions", John Wiley and Sons, Inc., 1981; y E.L. Eliel y S.H. Wilen, "Stereochemistry of Organic Compounds", Wiley-Interscience, 1994).

35 Una sal farmacéuticamente aceptable de un compuesto de la invención puede formarse, por ejemplo, por reacción de una base libre adecuada de un compuesto de la invención, un ácido farmacéuticamente aceptable adecuado en un disolvente adecuado, tal como éter dietílico, en condiciones convencionales bien conocidas en la técnica. Además, la formación de dichas sales farmacéuticamente aceptables puede producirse simultáneamente a la desprotección de un grupo protector nitrogenado. Véase, por ejemplo, Gould, P.L., "Salt selection for basic drugs", *International Journal of Pharmaceutics*, 33: 201-217 (1986); Bastin, R.J., *et al.* "Salt Selection and Optimization Procedures for Pharmaceutical New Chemical Entities," *Organic Process Research and Development*, 4: 427-435 (2000); y Berge, S.M., *et al.*, "Pharmaceutical Salts", *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 66: 1-19, (1977).

45 Algunas abreviaturas se definen como sigue: "BINAP" se refiere a ($\pm$)-2,2'-bis(difenilfosfino)-1,1'-binaftaleno; "BOP" se refiere a hexafluorofosfato de (benzotriazol-1-iloxi)tris(dimetilamino)fosfonio; "BrettPhos" se refiere a dicitclohexil[3,6-dimetoxi-2',4',6'-tris(1-metiletil)-1,1'-bifenil]-2-il]fosfina; "DCM" se refiere a diclorometano; "DEM" se refiere a dietilmalonato; "DIEA" se refiere a N,N-diisopropiletilamina; "DMEM" se refiere a Dulbecco's Modified Eagle's Medium; "DMF" se refiere a N,N-dimetilformamida; "DMSO" se refiere a dimetilsulfóxido; "EtOAc" se refiere a acetato de etilo; "EtOH" se refiere a etanol y alcohol etílico; "FBS" se refiere a suero fetal bovino; "HATU" se refiere a 1-[bis(dimetilamino)metileno]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]piridinio 3-oxid hexafluorofosfato; "HEPES" se refiere a ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinaetanofosfónico; "HPLC" se refiere a cromatografía líquida de alto rendimiento; "IFN α " se refiere a interferón alfa; "IL-2" se refiere a interleucina 2; "IL-23" se refiere a interleucina 23; "JAK" se refiere a Janus quinasa; "LiHMDS" se refiere a hexametildisilazida de litio; "MeI" se refiere a yoduro de metilo; "MeNH $_2$ " se refiere a metilamina; "MeOH" se refiere a metanol y alcohol metílico; "MTBE" se refiere a metil tert-butil éter; "NaOEt" se refiere a etóxido de sodio; "Pd-175 [tBuBrettPhos Pd(alil)]OTf" se refiere a alil(2-di-terc-butilfosfino-3,6-dimetoxi-2',4',6'-triisopropil-1,1'-bifenil)triflato de paladio(II); "RPM" se refiere a revoluciones por minuto; "RPMI" se refiere al Roswell Park Memorial Institute; "TEA" se refiere a trietilamina; "THF" se refiere a tetrahidrofurano; "TYK2" se refiere a tirosina quinasa 2; "UVB" se refiere a ultravioleta B; y "STAT" se refiere a proteína transdutora de señales y activadora de la transcripción.

Los compuestos de la presente invención, o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, pueden prepararse por medio de una diversidad de procedimientos conocidos por un experto en la materia, algunos de los cuales se ilustran en los esquemas, preparaciones y ejemplos siguientes. Los productos de cada etapa de los esquemas siguientes pueden recuperarse por procedimientos convencionales bien conocidos en la técnica, que incluyen extracción, evaporación, precipitación, cromatografía, filtración, trituración y cristalización. En los esquemas siguientes, todos los sustituyentes, salvo que se indique lo contrario, son como se han definido anteriormente. Cualquier persona con una habilidad ordinaria en la materia puede obtener con facilidad los reactivos y los materiales de partida. Sin limitar el alcance de la invención, los siguientes esquemas, preparaciones y ejemplos se proporcionan para ilustrar mejor la invención.

Esquema 1

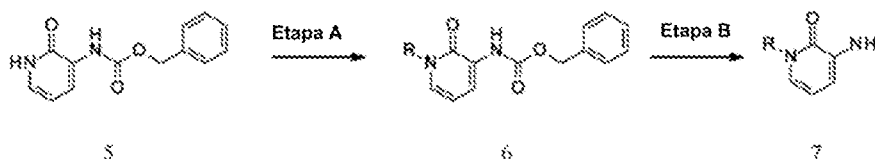


En el esquema 1, etapa A, la formación del compuesto (2) se muestra como un acoplamiento de amida, en condiciones bien conocidas en la técnica, entre el compuesto (1) y MeNH_2 mediante el uso de una base orgánica adecuada, tal como DIEA y un agente de acoplamiento adecuado, tal como HATU, en un disolvente, tal como DMF, a 0-22 °C.

En la etapa B, se añade MeI al compuesto (2) para formar una sal de yoduro de dimetilsulfonio, seguida de un tratamiento con una base adecuada, tal como LiHMDS, en un disolvente adecuado, tal como THF, a 0-22 °C para obtener el compuesto ciclado (3).

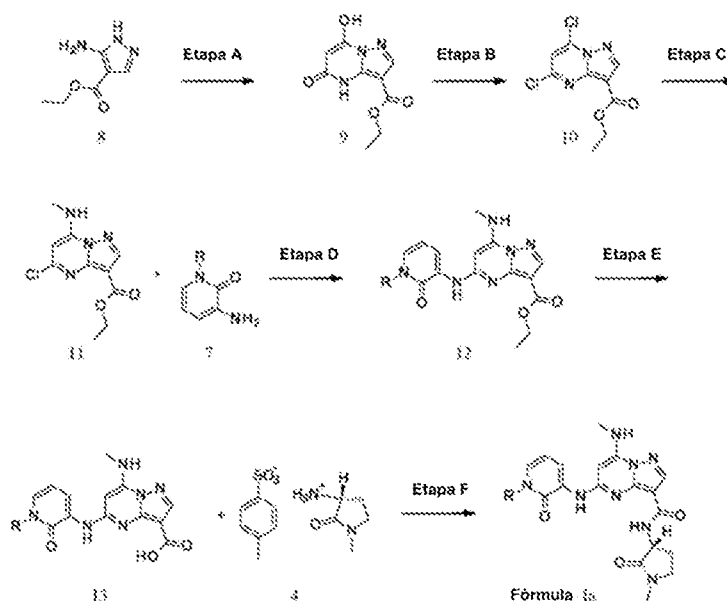
En la etapa C, el compuesto (3) se desprotege en condiciones convencionales mediante el uso de un ácido adecuado, tal como el ácido 4-metilbencenosulfónico, en un disolvente adecuado, tal como acetonitrilo, a aproximadamente 55 °C, seguido de la adición de un disolvente, tal como MTBE, para precipitar el compuesto (4).

Esquema 2



En el esquema 2, etapa A, una acoplación Buchwald se realiza entre el compuesto (5) y una bromopiridina sustituida mediante el uso de CuI con una base adecuada, tal como carbonato de potasio, en disolventes adecuados, tal como DMF y 1,4-dioxano para obtener el compuesto (6). En algunos casos, también se añade N,N'-dimetiletetano-1,2-diamina a la mezcla de reacción.

La etapa B representa la desprotección del compuesto (6) por medio de hidrogenación mediante el uso de un catalizador adecuado tal como 10% Pd/C o 20% $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{Cen}$ en un disolvente tal como EtOH o MeOH bajo una atmósfera de hidrógeno presurizada para dar el compuesto (7).

Esquema 3

El esquema 3, etapa A, representa la adición de DEM al compuesto (8) y la posterior ciclación al compuesto (9) mediante el uso de una base adecuada, tal como NaOEt o t-butoxido de potasio, a aproximadamente 80 °C en un disolvente, tal como EtOH.

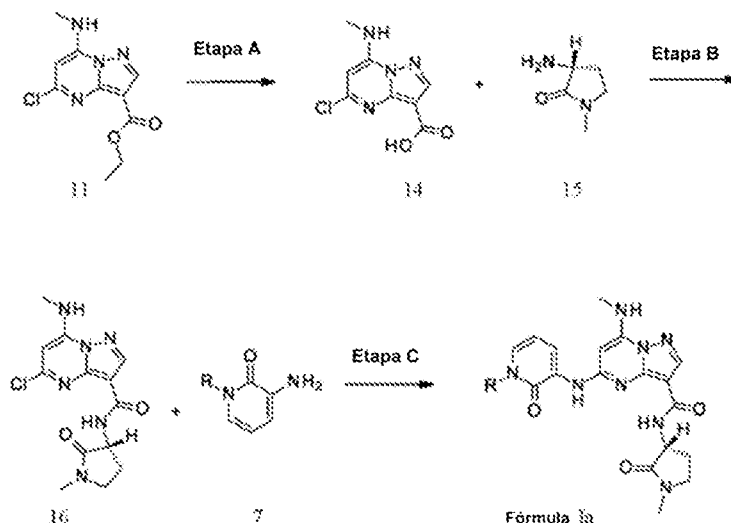
- 5 En la etapa B, los grupos 7-hidroxi y 5-oxo del compuesto (9) pueden clorarse mediante el uso de una fuente de cloro adecuada, tal como POCl_3 , y una base orgánica adecuada, tal como piridina, a aproximadamente 50-100 °C en un disolvente adecuado, tal como acetonitrilo, para obtener el compuesto (7).

10 En la etapa C, puede realizarse una sustitución aromática nucleofílica selectiva en el grupo 7-cloro del compuesto (7) en condiciones bien conocidas en la técnica mediante el uso de un nucleófilo adecuado, tal como MeNH_2 , en un disolvente adecuado, tal como THF, a temperatura ambiente para obtener el compuesto (11).

En la etapa D, se puede realizar un acoplamiento de Buchwald en el compuesto (11) con el compuesto (7) para formar el compuesto (12) mediante el uso de un sistema de catalizador y ligando adecuado, tal como $\text{Pd-175 [tBuBrettPhos Pd(III)]OTf}$ con una base adecuada, tal como acetato de potasio, en un sistema de disolvente adecuado, tal como 2-metil-2-butanol con calentamiento a 100 °C.

- 15 El compuesto (12) puede tratarse con una base adecuada, tal como LiOH acuoso, en un sistema de disolventes adecuado, tal como EtOH y THF, a reflujo para obtener el compuesto (13) por medio de hidrólisis básica del éster como se muestra en la etapa E.

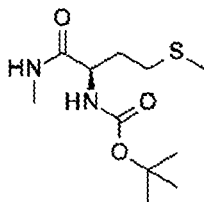
20 La etapa F representa la formación de un compuesto de Fórmula la por medio de un acoplamiento de amida, en condiciones bien conocidas en la técnica, entre el compuesto (13) y el compuesto (4) mediante el uso de una base orgánica adecuada, tal como DIEA, y un agente de acoplamiento adecuado, tal como BOP, en un disolvente, tal como DMF.

Esquema 4

El esquema 4, etapa A, representa la hidrólisis básica del compuesto (11) con una base adecuada, tal como NaOH acuoso, en un disolvente, tal como 1,4-dioxano, a 50 °C para obtener el compuesto (14).

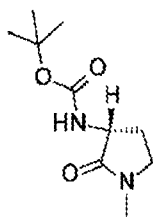
La etapa B muestra el acoplamiento de amida entre los compuestos (14) y (15) mediante el uso de las condiciones generalmente descritas en el esquema 3, etapa F, para obtener el compuesto (16).

En la etapa C, se puede realizar un acoplamiento de Buchwald entre los compuestos (16) y (7) mediante el uso de un sistema de catalizador y ligando adecuado, tal como Pd-175 [tBuBrettPhos Pd(allyl)]OTf o el dímero de cloruro de alilpaladio(II) y BINAP, con una base adecuada, tal como acetato de potasio, en un disolvente adecuado, tal como 2-metil-2-butanol, con calentamiento a 120-140 °C para obtener el compuesto de Fórmula Ia.

Preparación 1**N-[(1R)-1-(Metilcarbamoil)-3-metilsulfanilpropil] carbamato de terc-butilo**

Esquema 1, etapa A: Se enfría a 0 °C una disolución de (terc-butoxicarbonil)-D-metionina (400 g, 1,6 mol), clorhidrato de metilamina (162,47 g, 2,4 mol) y DIEA (700 ml, 4,01 mol) en DMF (4 L) y se añade HATU (732,1 g, 1,92 mol). La reacción se calienta a temperatura ambiente. Tras 2 horas de agitación, se evapora el disolvente. A continuación, se añade agua (10 l) y la solución acuosa se extrae con DCM (2 x 3 l). Se combinan las capas orgánicas, se lavan con una solución de bicarbonato de sodio acuoso saturado (3 L), se secan sobre sulfato de sodio y se concentranal vacío. El residuo resultante se purifica por medio de cromatografía en gel de sílice eluyendo con EtOAc en hexano para obtener el compuesto del título en forma de un sólido blanco (368 g, 87 %). ES/MS *m/z* 263 (M+H).

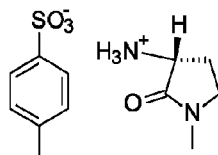
Preparación 2**N-[(3R)-1-metil-2-oxopirrolidin-3-il]carbamato de terc-butilo**



Esquema 1, etapa B: Una mezcla de N-[(1R)-1-(metilcarbamoil)-3-metilsulfanilpropil]carbamato de *terc*-butilo (368 g, 1,40 mol) y MeI (3,68 l, 59,11 mol) se agita a temperatura ambiente durante 18 horas. A continuación, la mezcla se concentra al vacío. Una porción de la sal cruda de yoduro de dimetilsulfonio resultante (210 g, 0,52 mol) se disuelve en THF (4,7 L), se enfría a 0 °C bajo atmósfera de nitrógeno y se añade gota a gota LiHMDS (solución 1,00 M en THF, 1,16 L, 1,16 mol). A continuación, la mezcla de reacción se calienta a temperatura ambiente. Transcurridas 4 horas, se añade agua (2,4 l) y el disolvente se concentra hasta la mitad de su volumen. La mezcla se extrae con DCM (2 x 3 l). Las fases orgánicas se reúnen y se concentran al vacío. El residuo se purifica por cromatografía en gel de sílice eluyendo con MeOH en DCM para obtener el compuesto del título en forma de un sólido blanco (50 g). ES/MS m/z 215 (M+H). HPLC quiral: tR (tiempo de retención) = 9,13 minutos; columna LC: ChiralPac IA DO 4,6 x 250 mm, 5 μ m; isocrático: dietilamina al 0,1 %/hexanos/etanol (85/15); temp. de la columna: 25 °C; caudal: 1,0 ml/min. Rotación óptica: $[\alpha]_D^{20} = +53^\circ$ (C = 0,5, MeOH).

Preparación 3

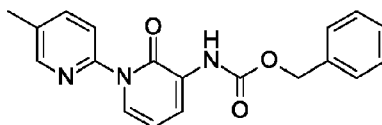
(3R)-3-Amino-1-metilpirrolidin-2-ona; ácido 4-metilbencenosulfónico



Esquema 1, etapa C: Una mezcla de N-[(3R)-1-metil-2-oxopirrolidin-3-il]carbamato de *terc*-butilo (46 g, 214,69 mmol) y ácido 4-metilbencenosulfónico (74,5 g, 433 mmol) en acetonitrilo (500 ml) se calienta a 55 °C y se agita durante 4 horas. A continuación, se añade MTBE (1 l) y la mezcla se enfría hasta 22 °C. El sólido resultante se recoge por filtración, se lava con más MTBE y se seca al vacío hasta alcanzar un peso constante para obtener el compuesto del título en forma de un sólido blanco (60 g, 95 %). ES/MS m/z 115 (M+H). Rotación óptica: $[\alpha]_D^{20} = +31,3^\circ$ (C = 0,5, MeOH).

Preparación 4

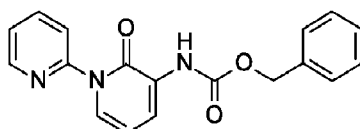
N-[1-(5-metil-2-piridil)-2-oxo-3-piridil]carbamato de bencilo



Esquema 2, etapa A: Se carga un recipiente de alta presión con N-(2-oxo-1H-piridin-3-il)carbamato de bencilo (6 g, 24 mmol), yoduro cuproso (0,9 g, 5 mmol), 2-bromo-5-metilpiridina (3,75 g, 21,4 mmol), carbonato potásico (7 g, 51 mmol), 1,4-dioxano (130 mL) y DMF (0,5 mL). La reacción se calienta a 110 °C durante 4 horas. La mezcla se enfría a temperatura ambiente, se filtra a través de tierra de diatomeas y se lava con 1,4-dioxano. El filtrado se concentra al vacío para obtener el un aceite marrón oscuro. El residuo resultante se purifica por medio de cromatografía en gel de sílice eluyendo con 0-60% EtOAc/hexano durante 25 minutos para obtener el compuesto del título en forma de un sólido blanco (5 g, 62 %). ES/MS m/z 336 (M+H).

Preparación 5

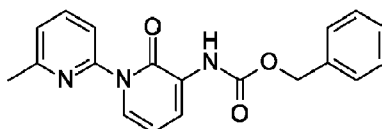
N-[2-oxo-1-(2-piridil)-3-piridil]carbamato de bencilo



Esquema 2, etapa A: Se carga un recipiente de alta presión con N-(2-oxo-1H-piridin-3-il)carbamato de bencilo (10,10 g, 41,36 mmol), yoduro cuproso (1,6 g, 8,6 mmol), 2-bromopiridina (5,2 mL, 54 mmol), carbonato potásico (11,8 g, 86 mmol), 1,4-dioxano (200 mL) y N',N'-dimetiletil-1,2-diamina (2 mL, 17,4 mmol). La reacción se calienta a 115 °C durante 18 horas. La mezcla se enfría a temperatura ambiente y se filtra a través de tierra de diatomeas. El filtrado se concentra al vacío para dar un aceite marrón. El residuo resultante se purifica por medio de cromatografía en gel de sílice eluyendo con 0-60% EtOAc/hexano para obtener el compuesto del título en forma de un sólido blanco (10,14 g, 76%). ES/MS m/z 322,0 (M+H).

Preparación 6

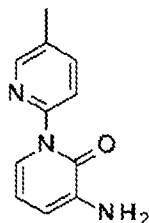
N-[1-(6-metil-2-piridil)-2-oxo-3-piridil]carbamato de bencilo



Esquema 2, etapa A: Se carga un recipiente de alta presión con N-(2-oxo-1H-piridin-3-il)carbamato de bencilo (9,8 g, 40 mmol), yoduro cuproso (1,9 g, 10 mmol), 2-bromo-6-metilpiridina (5,9 mL, 51 mmol), carbonato potásico (11 g, 80 mmol), N',N'-dimetiletil-1,2-diamina (2 mL) y 1,4-dioxano (190 mL). La reacción se calienta a 115 °C durante 5 horas. La mezcla se enfría a temperatura ambiente y se filtra a través de tierra de diatomeas. El filtrado se concentra al vacío para dar un aceite marrón. El residuo resultante se purifica por medio de cromatografía en gel de sílice eluyendo con 0-50% EtOAc/hexano para obtener el compuesto del título en forma de un sólido blanco (7,77 g, 58%). ES/MS m/z 336,0 (M+H).

Preparación 7

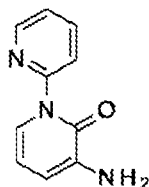
3-Amino-1-(5-metil-2-piridil)piridin-2-ona



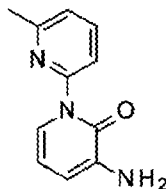
Esquema 2, etapa B: Se purga con nitrógeno un agitador Parr y se carga con Pd/C al 10% (1,27 g, 1,19 mmol). El agitador Parr se purga con nitrógeno y después se carga con MeOH (25 mL) y N-[1-(5-metil-2-piridil)-2-oxo-3-piridil]carbamato de bencilo (5,0 g, 15 mmol) disuelto en MeOH (25 mL) y EtOAc (10 mL). El agitador Parr se sella, se purga con nitrógeno y después con hidrógeno, y se presuriza a 138 kPa. La mezcla se agita a 30 °C durante 20 minutos. La mezcla de reacción se filtra y el disolvente se concentra al vacío para obtener el compuesto del título en forma de un sólido amarillo (2,7 g, 90 %). ES/MS m/z 202 (M+H).

Preparación 8

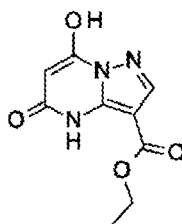
3-Amino-1-(2-piridil)piperidina-2-ona



Esquema 2, etapa B: Se purga con nitrógeno un agitador Parr y se carga con Pd(OH)₂/C al 20% (5,7 g, 41 mmol). El agitador Parr se purga con nitrógeno y después se carga con EtOH (200 mL) y N-[2-oxo-1-(2-piridil)-3-piridil]carbamato de bencilo (9,2 g, 29 mmol) disuelto en EtOH (200 mL). El agitador Parr se sella, se purga con nitrógeno y después con hidrógeno, y se presuriza a 48 kPa. La mezcla se agita a temperatura ambiente durante 50 minutos. La mezcla de reacción se filtra y el disolvente se concentra al vacío para obtener el compuesto del título en forma de un sólido amarillo (5,3 g, 99 %). ES/MS m/z 188,0 (M+H).

Preparación 9**3-Amino-1-(6-metil-2-piridil)piridin-2-ona**

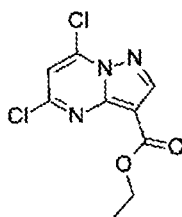
- 5 Esquema 2, etapa B: Se carga un agitador Parr purgado con nitrógeno con 20% de Pd(OH)₂/C (7,7 g, 55 mmol). El agitador Parr se purga con nitrógeno y después se carga con EtOH (200 mL) y N-[1-(6-metil-2-piridil)-2-oxo-3-piridil]carbamato de bencilo (7,77 g, 23 mmol) disuelto en EtOH (200 mL). El agitador Parr se sella, se purga con nitrógeno y después con hidrógeno, y se presuriza a 62 kPa. La mezcla se agita a temperatura ambiente durante 55 minutos. La mezcla de reacción se filtra y el disolvente se concentra *al vacío* hasta obtener un aceite viscoso. El material bruto se suspende en DCM (40 mL) y se añade hexano con agitación hasta que se forme un precipitado. La
- 10 mezcla se filtra y se seca al aire para obtener el compuesto del título en forma de un sólido de color tostado (3,0 g, >51 %). ES/MS *m/z* 202,0 (M+H).

Preparación 10**7-Hidroxi-5-oxo-4H-pirazolo[1,5-a]pirimidina-3-carboxilato de etilo**

- 15 Esquema 3, etapa A: El 5-amino-1H-pirazol-4-carboxilato de etilo (12,5 g, 80,6 mmol) y el DEM (18,5 ml, 121 mmol) se disuelven en EtOH (90 ml). A esta mezcla se le añade NaOEt (al 21 % en masa en EtOH, 45,1 ml, 121 mmol) y la reacción se agita a 90 °C durante 24 horas. Transcurrido este tiempo, la reacción se enfría a temperatura ambiente. A continuación, la mezcla se acidifica con una solución acuosa de HCl 5 N y el precipitado resultante se filtra para dar el compuesto del título como sólido blanco (11,7 g, 65,1%). ES/MS *m/z* 224 (M+H).

20 Preparación Alternativa 10

- Esquema 3, etapa A: A una solución de 5-amino-1H-pirazol-4-carboxilato de etilo (400 g, 2,58 mol) y DEM (584 ml, 3,87 mol) en EtOH (6,00 L) se añade t-butoxido de potasio (578 g, 5,16 mol) a 25 °C bajo nitrógeno. La solución se agita a 80 °C durante 12 horas y después la reacción se enfría a 22 °C. Se diluye la mezcla de reacción con HCl 0,1 N (2 L) y se ajusta el pH a 3 con HCl 5 N. La mezcla se filtra y la torta de filtración se lava con agua (800 ml). El sólido se seca
- 25 al vacío hasta alcanzar un peso constante para obtener el compuesto del título en forma de un sólido blanquecino (460 g, 81 %). ES/MS *m/z* 224 (M+H).

Preparación 11**5,7-dicloropirazolo[1,5-a]pirimidina-3-carboxilato de etilo**

- 30 Esquema 3, etapa B: Se suspende 7-hidroxi-5-oxo-4H-pirazolo[1,5-a]pirimidina-3-carboxilato de etilo (11,7 g, 52,4 mmol) en acetonitrilo (50 ml) y se purga con nitrógeno durante 5 minutos. A esta mezcla se le añade POC₆ (14,8 ml, 157 mmol), seguido de piridina (4,28 ml, 52,4 mmol) a 50 °C y, a continuación, se agita la mezcla a 100 °C durante 5

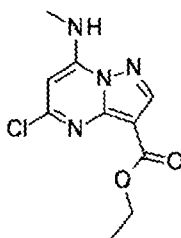
horas. Transcurrido este tiempo, la reacción se enfría a temperatura ambiente y se vierte en una mezcla de hielo y agua. Esta mezcla se neutraliza con solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio y el precipitado resultante se filtra para dar el compuesto del título como sólido blanco (13 g, 95,3%). ES/MS (m/z) ($^{35}\text{Cl}/^{37}\text{Cl}$) 260/262 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$.

Preparación Alternativa 11

- 5 Esquema 3, etapa B: A una suspensión de 7-hidroxi-5-oxo-4H-pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxilato de etilo (400 g, 1,79 mol) en acetonitrilo (2 l) se le añaden gota a gota POCl_3 (416 ml, 4,48 mol) y piridina (217 ml, 2,69 mol) a 50 °C en una atmósfera de nitrógeno. La reacción se agita a 80 °C durante 12 horas. La mezcla de reacción se concentra al vacío y el residuo se vierte en agua (2 l). La mezcla de reacción se filtra y el sólido se lava con agua (800 ml). El sólido se seca al vacío hasta alcanzar un peso constante para obtener el compuesto del título en forma de un sólido naranja (360 g, 66 %). ES/MS m/z ($^{35}\text{Cl}/^{37}\text{Cl}$) 260/262 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$.

Preparación 12

5-Cloro-7-(metilamino)pirazolo[1,5-a]pirimidina-3-carboxilato de etilo

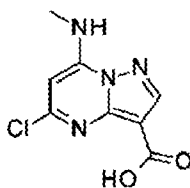


- 15 Esquema 3, etapa C: Se añade 5,7-dicloropirazolo[1,5-a]pirimidina-3-carboxilato de etilo (50,0 g, 192 mmol) a THF (250 ml) y se enfría la disolución hasta 10 °C. A continuación, se añade una disolución de MeNH_2 (al 33 % p/p en EtOH) (79 ml, 634 mmol), manteniendo la temperatura por debajo de 20 °C. La mezcla se agita y se calienta hasta 22 °C y se agita durante 4 horas. A continuación, se añade agua (300 ml) y la mezcla se agita durante 1 hora más.

- 20 Los sólidos resultantes se recolectan por medio de filtración y se lavan con una mezcla de THF/agua (2:3) (100 ml) y agua (400 ml). A continuación, el sólido se seca al vacío (10 mbar/50 °C) hasta alcanzar un peso constante para obtener el compuesto del título en forma de un sólido marrón pálido (49,5 g, 90 %). ES/MS m/z ($^{35}\text{Cl}/^{37}\text{Cl}$) 255/257 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$.

Preparación 13

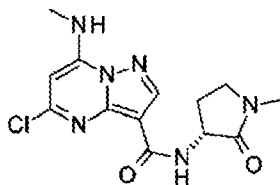
Ácido 5-cloro-7-(metilamino)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxílico



- 25 Esquema 4, etapa A: Se añade NaOH 1 N (50 ml, 50 mmol) al 5-cloro-7-(metilamino)pirazolo[1,5-a]pirimidina-3-carboxilato de etilo (9,05 g, 35,5 mmol) en 1,4-dioxano (50 ml) y se calienta la mezcla hasta 50 °C. Después de 16 horas, la mezcla se enfría hasta la temperatura ambiente y el pH se ajusta a aproximadamente 3 por medio de la adición de HCl 1 N. El sólido resultante se recoge y se seca al vacío para obtener el compuesto del título en forma de un sólido de color tostado claro (8,0 g, >99 %). ES/MS m/z ($^{35}\text{Cl}/^{37}\text{Cl}$) 227/229 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$.

Preparación 14

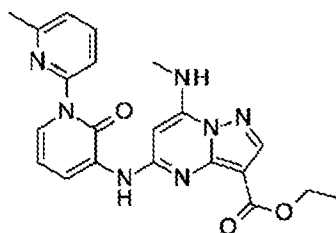
5-Cloro-7-(metilamino)-N-[(3R)-1-metil-2-oxopirrolidin-3-il]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida



Esquema 4, etapa B: A una mezcla de ácido 5-cloro-7-(metilamino)pirazolo[1,5-a]pirimidina-3-carboxílico (4,3 g, 19 mmol) y (R)-3-amino-1-metil-pirrolidin-2-ona (2,4 g, 21 mmol) en DMF (95 ml) se le añade DIEA (14 ml, 80 mmol) y BOP (11 g, 24 mmol). La mezcla se agita a temperatura ambiente durante 2 horas y después se enfría con agua, formándose un sólido blanquecino. El sólido resultante se filtra y se seca al vacío a temperatura ambiente para obtener el compuesto del título en forma de un sólido blanquecino (5 g, 82 %). ES/MS m/z 323 (M+H).

Preparación 15

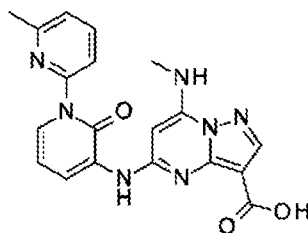
7-(metilamino)-5-[[1-(6-metil-2-piridil)-2-oxo-3-piridil]amino]pirazolo[1,5-a]pirimidina-3-carboxilato de etilo



Esquema 3, etapa D: Se carga un matraz de fondo redondo con 5-cloro-7-(metilamino)pirazolo[1,5-a]pirimidina-3-carboxilato de etilo (2 g, 7,8 mmol), acetato de potasio (2,2 g, 15,7 mmol), y 2-metilbutano-2-ol (25 ml). El matraz se enjuaga con nitrógeno durante 5 minutos. Se añaden Pd-175 [tBuBrettPhos Pd(alil)]OTf (184 mg, 0,24 mmol) y ácido acético (0,045 mL, 0,79 mmol). La mezcla se calienta a 100 °C durante 18 horas. A continuación, la mezcla se enfría a temperatura ambiente y se diluye con DCM/agua (30 mL). La mezcla se filtra y se seca al vacío a temperatura ambiente para obtener el compuesto del título (2,4 g, 73 %). ES/MS m/z 420,0 (M+H).

Preparación 16

Ácido 7-(Metilamino)-5-[[1-(6-metil-2-piridil)-2-oxo-3-piridil]amino]pirazolo[1,5-a]pirimidina-3-carboxílico



Esquema 3, etapa E: Se carga un matraz de fondo redondo con 7-(metilamino)-5-[[1-(6-metil-2-piridil)-2-oxo-3-piridil]amino]pirazolo[1,5-a]pirimidina-3-carboxilato de etilo (2,4 g, 5,7 mmol), EtOH (20 ml), e hidróxido de litio (0,34 g, 4,1 mmol) disuelto en agua (12 ml). La mezcla se calienta a reflujo en una atmósfera de nitrógeno durante 18 horas y luego se deja enfriar hasta la temperatura ambiente. El pH se ajusta a aproximadamente 2 mediante la adición de HCl 1 N. Tras agitar durante 30 minutos, el sólido resultante se filtra, se lava con agua helada (20 ml) y se seca al vacío a temperatura ambiente para obtener el compuesto del título (1,6 g, 71 %). ES/MS m/z 392,0 (M+H).

Preparación 17

Preparación del trazador para el ensayo de unión del trazador TYK2-JH2 (2E)-2-[(2E,4E)-5-[3-[6-[4-[4-[5-[2-metoxi-3-(1-metil-1,2,4-triazol-3-il)anilino]-6-(metilcarbamoil)-1,2,4-triazin-3-il]amino]pirazol-1-il]-1-piperidil]-6-oxohexil]-3-metil-5-sulfonato-1-(3-sulfonatopropil)indol-1-ilo-2-il]penta-2,4-dienilideno]-3,3-dimetil-1-(3-sulfonatopropil)indolin-5-sulfonato; trietilamonio

Se añade 2-metoxi-3-(1-metil-1,2,4-triazol-3-il)anilina (5,95 g, 29,1 mmol) a 5-cloro-3-metilsulfanil-1,2,4-triazina-6-carboxilato de etilo (6,8 g, 29,0 mmol) en NMP (20 ml) y se agita a temperatura ambiente. Después de 90 minutos, se añade éter dietílico (100 ml) y la mezcla se agita durante 15 minutos. El sólido resultante se filtra y se lava con éter dietílico. El sólido se reparte entre DCM y una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio. La capa orgánica se lava de nuevo con una solución acuosa saturada de cloruro de sodio, se seca sobre sulfato de sodio, se filtra y se evapora para obtener 5-[2-metoxi-3-(1-metil-1,2,4-triazol-3-il)anilino]-3-metilsulfanil-1,2,4-triazin-6-carboxilato de etilo en forma de un sólido amarillo tenue (10,12 g, 82 %). ES/MS m/z 402,2 (M+H).

Se agita el 5-[2-metoxi-3-(1-metil-1,2,4-triazol-3-il)anilino]-3-metilsulfanil-1,2,4-triazin-6-carboxilato de etilo (10,12 g, 23,7 mmol) en MeNH₂ 2 M en THF (75 ml, 150 mmol) a temperatura ambiente durante 4 horas. Se añade éter dietílico (100 ml) y se agita la mezcla durante 15 minutos. El sólido resultante se recoge, se lava con éter dietílico (50 ml) y se

seca al vacío para obtener 5-[2-metoxi-3-(1-metil-1,2,4-triazol-3-il)anilino]-N-metil-3-metilsulfanil-1,2,4-triazina-6-carboxamida en forma de un sólido amarillo claro (8,03 g, 78 %). ES/MS m/z 387,0 (M+H).

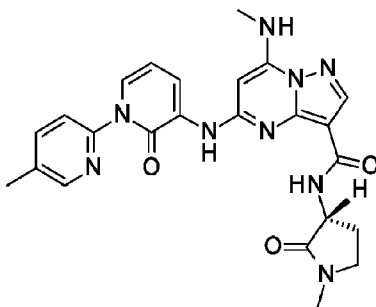
Se añade ácido *m*-cloroperoxibenzoico (703 mg, 3,14 mmol) a una suspensión de 5-[2-metoxi-3-(1-metil-1,2,4-triazol-3-il)anilino]-N-metil-3-metilsulfanil-1,2,4-triazina-6-carboxamida (500 mg, 1,26 mmol) en DMF (12,5 ml) a 0 °C y se deja calentar hasta la temperatura ambiente. Tras 30 minutos, se añade 4-(4-aminopirazol-1-il)piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo (520 mg, 1,89 mmol) y se agita la mezcla a temperatura ambiente. Transcurridas 24 horas, la mezcla se reparte entre DCM y una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio. La capa orgánica se seca sobre sulfato de magnesio, se filtra y se evapora. El sólido resultante se tritura varias veces con éter dietílico y se seca al vacío para obtener 4-[4-[[5-[2-metoxi-3-(1-metil-1,2,4-triazol-3-il)anilino]-6-(metilcarbamoil)-1,2,4-triazin-3-il]amino]pirazol-1-il]piperidin-1-carboxilato de *tert*-butilo en forma de un sólido amarillo puro al 86 % (720 mg, 81 %). ES/MS m/z 605,2 (M+H).

Se añade HCl 4 N en dioxano (2,5 ml, 10 mmol) a una suspensión de 4-[4-[[5-[2-metoxi-3-(1-metil-1,2,4-triazol-3-il)anilino]-6-(metilcarbamoil)-1,2,4-triazin-3-il]amino]pirazol-1-il]piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo (720 mg, 1,0 mmol) en MeOH (5 ml) y se agita a temperatura ambiente. Transcurridas 72 horas, se evapora la mezcla. El material resultante se reparte entre DCM (100 ml) y agua (20 ml). El pH de la capa acuosa se ajusta a >8 mediante adición de NaOH 1 N y se extrae con cloroformo/isopropanol 3:1. Se reúnen las capas orgánicas, se secan sobre sulfato de magnesio, se filtran y se evaporan. El sólido resultante se tritura con éter dietílico y después se seca al vacío para obtener 5-[2-metoxi-3-(1-metil-1,2,4-triazol-3-il)anilino]-N-metil-3-[[1-(4-piperidil)pirazol-4-il]amino]-1,2,4-triazina-6-carboxamida en forma de un sólido amarillo puro al 86 % (585 mg, 97 %). ES/MS m/z 505,0 (M+H).

Se añade una solución de (2E)-2-[(2E,4E)-5-[3-[6-(2,5-dioxopirrolidin-1-il)oxi-6-oxohexil]-3-metil-5-sulfonato-1-(3-sulfonatopropil)indol-1-ilo-2-il]penta-2,4-dienilideno]-3,3-dimetil-1-(3-sulfonatopropil)indolin-5-sulfonato de trietilamonio (10 mg, 0,008 mmol) en DMSO (1 ml) a una solución de 5-[2-metoxi-3-(1-metil-1,2,4-triazol-3-il)anilino]-N-metil-3-[[1-(4-piperidil)pirazol-4-il]amino]-1,2,4-triazin-6-carboxamida (4,5 mg, 0,008 mmol) y TEA (0,002 ml, 0,014 mmol) en DMSO (1 ml). El vial de reacción se envuelve en papel de aluminio para protegerlo de la luz y se agita a temperatura ambiente durante toda la noche. El residuo resultante se purifica mediante HPLC preparativa (Kinetix EVO C18 30 mm x 100 mm, 5 μ m) eluyendo con acetonitrilo del 0 al 20 % en agua para obtener el compuesto del título en forma de un sólido azul brillante (8,5 mg, 65 %). ES/MS m/z 673,4 (M+H).

Ejemplo 1

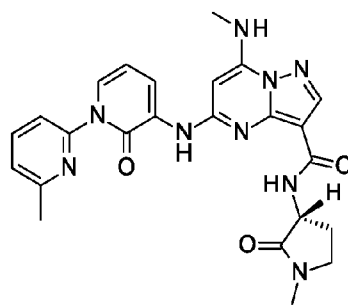
7-(Metilamino)-N-[(3R)-1-metil-2-oxo-pirrolidin-3-il]-5-[[1-(5-metil-2-piridil)-2-oxo-3-piridil]amino]pirazolo[1,5-a]pirimidina-3-carboxamida



Esquema 4, etapa C: Se carga un recipiente de microondas con 5-cloro-7-(metilamino)-N-[(3R)-1-metil-2-oxo-pirrolidin-3-il]pirazolo[1,5-a]pirimidina-3-carboxamida (76 mg, 0,23 mmol), 3-amino-1-(5-metil-2-piridil)piridin-2-ona (72 mg, 0,359 mmol), acetato de potasio (48 mg, 0,47 mmol), 2-metilbutano-2-ol (1,4 ml) y 1,4-dioxano (0,8 ml). El matraz se enjuaga con nitrógeno durante 5 minutos. Se añaden BINAP (59 mg, 0,093 mmol) y dímero de cloruro de alilpaladio(II) (16,7 mg, 0,0447 mmol). El recipiente se calienta en un microondas a 120 °C. Tras 20 minutos, la mezcla se enfría a temperatura ambiente y se filtra a través de tierra de diatomeas. El residuo resultante se purifica mediante cromatografía de fase inversa para obtener el compuesto del título (87 mg, 75 %). ES/MS m/z 488,2 (M+H).

Ejemplo 2

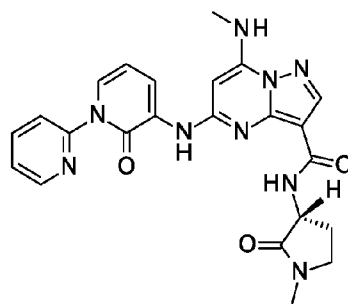
7-(Metilamino)-N-[(3R)-1-metil-2-oxo-pirrolidin-3-il]-5-[[1-(6-metil-2-piridil)-2-oxo-3-piridil]amino]pirazolo[1,5-a]pirimidina-3-carboxamida



Esquema 3, etapa F: A una mezcla de ácido 7-(metilamino)-5-[[1-(6-metil-2-piridil)-2-oxo-3-piridil]amino]pirazolo[1,5-a]pirimidina-3-carboxílico (1,2 g, 3,1 mmol) y (3R)-3-amino-1-metil-pirrolidin-2-ona; ácido 4-metilbencenosulfónico (0,9 g, 3 mmol) en DMF (25 ml) se le añade DIEA (2,1 ml, 12 mmol) y BOP (1,8 g, 3,9 mmol). Tras agitar a temperatura ambiente durante 1 hora, la mezcla de reacción se añade a agua (240 ml) y el pH se ajusta a ~6-7. Tras agitar durante 30 minutos, el sólido resultante se filtra, se lava con agua helada (20 ml) y se seca al vacío a temperatura ambiente. El residuo resultante se purifica por medio de cromatografía de fase inversa y se recrystaliza con MeOH para obtener el compuesto del título (446 mg, 30 %). ES/MS *m/z* 488,2 (M+H).

Ejemplo 3

7-(metilamino)-N-[(3R)-1-metil-2-oxo-pirrolidin-3-il]-5-[[2-oxo-1-(2-piridil)-3-piridil]amino]pirazolo[1,5-a]pirimidina-3-carboxamida



Esquema 4, etapa C: Se carga un recipiente de microondas con 5-cloro-7-(metilamino)-N-[(3R)-1-metil-2-oxo-pirrolidin-3-il]pirazolo[1,5-a]pirimidina-3-carboxamida (0,302 g, 0,935 mmol), 3-amino-1-(2-piridil)piridina-2-ona (0,21 g, 1,1 mmol), acetato de potasio (281 mg, 2,7 mmol), 2-metilbutano-2-ol (7,5 ml) y 1,4-dioxano (7,5 ml). El matraz se enjuaga con nitrógeno durante 5 minutos. Se añade Pd-175 [tBuBrettPhos Pd(alil)]OTf (30 mg, 0,038 mmol). El recipiente se calienta en un microondas a 140 °C. Tras 40 minutos, la mezcla se enfría a temperatura ambiente y se filtra a través de tierra de diatomeas. El residuo resultante se purifica mediante cromatografía de fase inversa para obtener el compuesto del título (265 mg, 60 %). ES/MS (*m/z*): 474,2 (M+H).

Ensayo de unión del trazador TYK2-JH2

El dominio pseudocinasa (JH2) de la tirosina cinasa 2 (TYK2) humana de la familia JAK (familia Janus de tirosina cinasas citoplásmicas) (Genbank NP_003322) con un marcador His6 N-terminal se expresa en baculovirus y se purifica por cromatografía de afinidad HisPur Ni-NTA y cromatografía de exclusión por tamaño Superdex 200. El compuesto preparado en la preparación 17, un conjugado de colorante Alexa Fluor 647 (Thermo Fisher Scientific) y un ligante de JH2 de TYK2 adecuado, se denomina en el presente documento "el trazador". Se prepara una dilución en serie de 10 puntos, en 3 veces del compuesto, (ejemplos 1, 2 y 3, en DMSO al 100 % y se transfieren 50 nl/pocillo a una placa blanca Proxiplate-384F (PerkinElmer 6008280) mediante el uso de manipulación acústica de líquidos. Los pocillos de control utilizados para determinar el porcentaje de inhibición contenían DMSO al 100 % (50 nl) y tampón de ensayo que contenía el trazador (concentración final de 2,00 nM) (mín, FRET baja) o enzima TYK2-JH2 diluida (concentración final de 0,200 nM) y el trazador (concentración final de 2,00 nM) (máx, FRET alta).

Se añaden 5,0 µl de TYK2-JH2 marcado con His (0,402 nM) y LanthaScreen Eu-anti-HIS Ab (4,02 nM, LifeTech, PV5597) en tampón de ensayo (HEPES 50 mM, pH 7,5, cloruro de magnesio 10 mM, etilenglicol-bis(β-aminoetil éter)-ácido N,N,N',N'-tetraacético 1 mM, Brij-35 al 0,01 % y agua Milli-Q) a la placa Proxiplate-384 que contiene los 50 nl de compuesto diluido y los pocillos de control. Se añaden a la placa 5,0 µl del trazador (concentración final de 2,00 nM) en tampón de ensayo y se deja que se equilibre durante 30 minutos a temperatura ambiente. Transcurridos 30 minutos, la placa se cuenta en un PerkinElmer Envision con la siguiente configuración: Excitación (340 nm), Emisión del trazador (665 nm) y Emisión del anticuerpo LanthaScreen Eu-anti-His (615 nm). Se determina el cociente entre la emisión del trazador (665 nm) y la emisión del anticuerpo LanthaScreen Eu-anti-His (615 nm). El porcentaje de inhibición de la

relación en cada concentración de inhibidor se calcula mediante el uso de los pocillos de control de máximo y mínimo y se ajusta a la ecuación logística no lineal de cuatro parámetros en GeneData Screener® para obtener una CI_{50} para los compuestos probados. Los datos descritos en la Tabla 1 demuestran que los compuestos de los Ejemplos 1-3 se unen al dominio pseudoquinasa TYK2-JH2 *in vitro*.

5 **Tabla 1:** Valores de CI_{50} proporcionados para los ejemplos 1-3

Compuesto	TYK2-JH2 de unión (nM)
Ejemplo 1	< 0,254 (n = 4)
Ejemplo 2	< 0,254 (n = 1)
Ejemplo 3	< 0,254 (n = 3)

Inhibición de la transducción de señales de IFN α a través de pSTAT1 en células TF1

Las células TF1 (ATCC, CL-2003) se cultivan en RPMI 1640 (GIBCO) suplementado con FBS dializado al 10 %, ampicilina 0,1 mg/ml y factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos 2 ng/ml. Las células TF1 (100 K por pocillo) se siembran en placas de 96 pocillos recubiertas de poli-D-lisina en DMEM sin suero y se incuban durante la noche a 37 °C en un 5 % de CO₂. El ejemplo 1 se diluye en serie en DMSO, se añade a las células y se incuban a 37 °C durante 1 hora. A continuación, se estimulan las células con IFN α 2 10 ng/ml a 37 °C durante 20 minutos. Tras eliminar el medio, las células se lisan en un tampón que contiene un cóctel inhibidor de proteasas y fosfatasa Halt (Thermo Scientific n.º 78441) a temperatura ambiente durante 30 minutos. La cantidad de p-Stat1 (Tyr701) se cuantifica como emisión de luz a 615 nm utilizando el kit de ensayo AlphaLISA SureFire Ultra p-Stat1 (Tyr701) (Perkin Elmer n.º ALSU-PST1-A50K) siguiendo el protocolo recomendado por el proveedor. Se calcula el porcentaje de inhibición en cada concentración de inhibidor y se ajusta a la ecuación logística no lineal de cuatro parámetros mediante el uso de Genedata Screener® para obtener una CI_{50} para los compuestos probados expresada como media geométrica con el error estándar de la media (EEM). Los datos descritos en la Tabla 2 demuestran que los compuestos de los Ejemplos 1-3 son inhibidores de la señalización de IFN α a través de pSTAT1 en células TF1.

Tabla 2: Valores de CI_{50} proporcionados para los ejemplos 1-3

Compuesto	IFN α inh (μ M)
Ejemplo 1	0,112 ($\pm$ 0.055 μ M, n=4)
Ejemplo 2	0,206 ($\pm$ 0.055 μ M, n=4)
Ejemplo 3	0,106 ($\pm$ 0.055 μ M, n=4)

Ensayo IL23 pSTAT3 AlphaLISA

Las células Kit225 dependientes de IL2 (Centro Oncológico MD Anderson de la Universidad de Texas) que expresan receptores endógenos de IL-23 se transducen de forma estable con el Lenti STAT3 Reporter unido a luciferasa de luciérnaga (SABiosciences CLS-6028L). Estas células se utilizan para controlar la actividad de TYK2 por medio de la cuantificación de la expresión génica causada por la fosforilación de STAT3 tras la inducción por IL-23 en presencia de IL-2 mediante el uso de la tecnología AlphaLISA (TGR Biosciences ALSU-TST3-A50K). Las células se cultivan en RPMI 1640 (Gibco 22400) suplementado con FBS al 10 % (Invitrogen 10082), 1X pen/estrep (Gibco 15140-122), puromicina 200 ng/ml (Sigma P9620) e IL-2 humana recombinante 10 ng/ml fresca (R&D Systems 202-IL-50).

Para la preparación del ensayo, las células se dispensan en placas Biocoat negras de fondo transparente de 384 pocillos recubiertas de poli-d-lisina (Becton Dickinson Bio-Coat 35-4640) en DMEM (Sigma D5796) a 300.000 células/pocillo y se dejan incuban durante la noche a 37 °C. Los compuestos solubilizados en DMSO se diluyen en serie 1:3 para producir una curva de respuesta de concentración de 10 puntos (DMSO final = 0,1%). Los compuestos solubilizados en DMSO se diluyen en serie 1:3 para producir una curva de respuesta de concentración de 10 puntos (DMSO final = 0,1%). Las células se preincuban con el ejemplo 1 durante 1 hora a 37 °C y luego se estimulan con IL-23 (25 ng/ml final) durante 30 minutos. Tras centrifugar a 2000 rpm durante 10 minutos, los sedimentos celulares se lisan con una mezcla de tampón de lisis (TGR Biosciences) y cóctel inhibidor de proteasas y fosfatasa Halt (Thermo Scientific 1861281) 1:1 durante 30 minutos. La reacción AlphaLISA se realiza siguiendo el protocolo recomendado por el proveedor, y los niveles de luciferasa se miden utilizando un lector de placas Envision (Perkin Elmer). La CI_{50} relativa se calcula mediante el uso de una ecuación logística no lineal de 4 parámetros (GeneData Screener 13.0.5) para obtener una CI_{50} para los compuestos probados expresada como media geométrica con el error estándar de la media

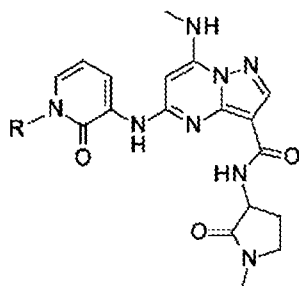
(EEM). Los datos descritos en la Tabla 3 demuestran que los compuestos de los Ejemplos 1-3 son inhibidores de la señalización de IL-23 en un ensayo basado en células.

Tabla 3: Valores de CI_{50} proporcionados para los ejemplos 1-3

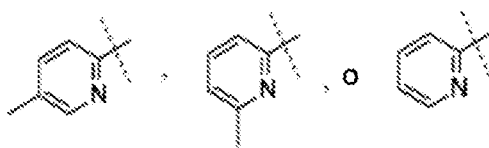
Compuesto	IL-23 inh (μM)
Ejemplo 1	0,065 ($\pm 0.055 \mu M$, n=4)
Ejemplo 2	0,101 ($\pm 0.055 \mu M$, n=4)
Ejemplo 3	0,101 ($\pm 0.055 \mu M$, n=4)

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula:



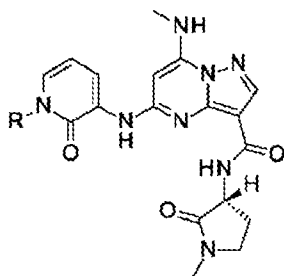
en la que R es



5

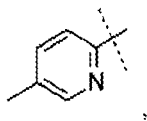
o una sal aceptable para uso farmacéutico del mismo.

2. El compuesto según la reivindicación 1 de fórmula:



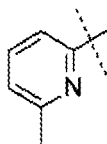
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10 3. El compuesto según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que R es:



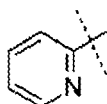
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

4. El compuesto según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que R es:



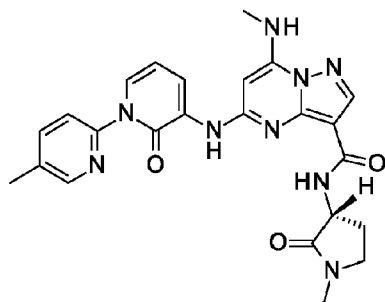
15 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5. El compuesto según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que R es:



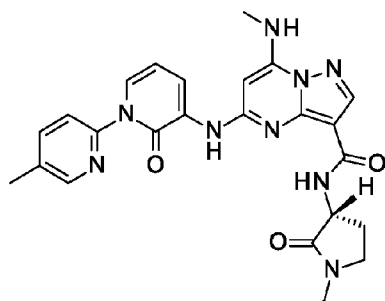
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

6. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el compuesto es:



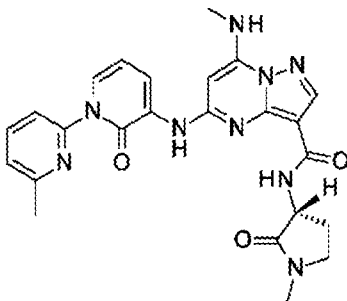
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

7. El compuesto según la reivindicación 6, que es:



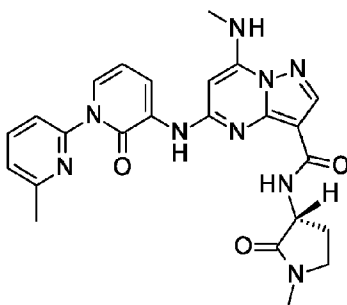
5

8. El compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1, 2 o 4, en el que el compuesto es:



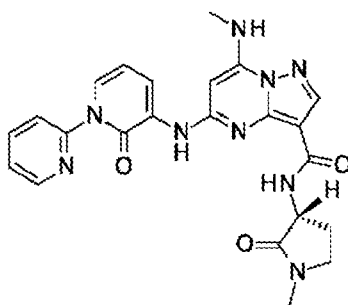
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

9. El compuesto según la reivindicación 8, que es:



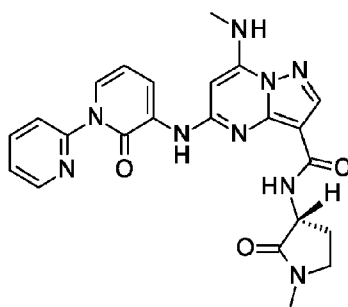
10

10. El compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1, 2 o 5, en el que el compuesto es:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

11. El compuesto según la reivindicación 10, que es:



- 5 12. Un compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, para su uso en terapia.
13. Un compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, para su uso en el tratamiento de la psoriasis.
- 10 14. Un compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, para su uso en el tratamiento del lupus eritematoso sistémico.
15. Un compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, para su uso en el tratamiento de la diabetes de tipo 1.
- 15 16. Una composición farmacéutica, que comprende un compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, con uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables.