

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 988 532**

51 Int. Cl.:

A61K 9/00	(2006.01)	A61P 21/00	(2006.01)
A61K 9/08	(2006.01)		
A61K 9/14	(2006.01)		
A61K 45/06	(2006.01)		
A61K 31/575	(2006.01)		
A61K 31/5025	(2006.01)		
A61K 31/519	(2006.01)		
A61P 25/28	(2006.01)		
A61P 25/00	(2006.01)		
A61P 25/02	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **08.11.2016 PCT/EP2016/076905**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **18.05.2017 WO17080967**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.11.2016 E 16794290 (3)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.03.2024 EP 3373972**

54 Título: **Composiciones para tratar la atrofia muscular espinal**

30 Prioridad:

12.11.2015 EP 15194297

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

20.11.2024

73 Titular/es:

**F. HOFFMANN-LA ROCHE AG (100.0%)
Grenzacherstrasse 124
4070 Basel, CH**

72 Inventor/es:

**ALSENZ, JOCHEM;
GRASSMANN, OLAF;
KUEHL, PETER;
METZGER, FRIEDRICH;
MCCARTHY, KATHLEEN DOROTHY;
MORAWSKI VIANNA, EDUARDO PAULO y
WOODHOUSE, MARVIN LLOYD**

74 Agente/Representante:

LINAGE GONZÁLEZ, Rafael

ES 2 988 532 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).

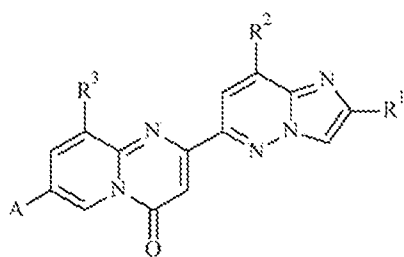
DESCRIPCIÓN

Composiciones para tratar la atrofia muscular espinal

5 **Introducción**

La presente invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden compuestos que son moduladores de empalme del gen SMN2, su fabricación y su uso para el tratamiento, retraso de la progresión o mejora de la atrofia muscular espinal (AME). Además, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden comprender opcionalmente citoprotectores. La invención se refiere además al uso combinado de moduladores de empalme del gen SMN2 y citoprotectores para su uso en el tratamiento o mejora de la atrofia muscular espinal (AME).

En particular, la presente invención se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden compuestos de fórmula (I)



(I)

en la que A, R¹, R² y R³ son como se describe en el presente documento, y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Antecedentes

La atrofia muscular espinal (AME), en su sentido más amplio, describe un conjunto de enfermedades del sistema nervioso central (SNC) hereditarias y adquiridas caracterizadas por la pérdida de motoneuronas progresiva en la médula espinal y tronco encefálico provocando debilidad muscular y atrofia muscular. La forma más común de AME se provoca por mutaciones en el gen de la motoneurona de supervivencia (SMN) y se manifiesta en un amplio intervalo de gravedad que afecta desde lactantes hasta adultos (*Crawford y Pardo, Neurobiol. Dis., 1996, 3:97*).

La AME infantil es la forma más grave de este trastorno neurodegenerativo. Los síntomas incluyen debilidad muscular, tono muscular insuficiente, llanto débil, cojera o tendencia a flacidez, dificultad para chupar o tragar, acumulación de secreciones en los pulmones o la garganta, dificultades para alimentarse y una susceptibilidad incrementada a infecciones respiratorias. Las piernas tienden a ser más débiles que los brazos y no se pueden alcanzar hitos del desarrollo, tales como levantar la cabeza o sentarse. En general, cuanto antes aparezcan los síntomas, más corta será la esperanza de vida. A medida que las células motoneuronas se deterioran, aparecen síntomas poco después. Las formas graves de la enfermedad son mortales y ninguna de las formas tiene cura conocida. El curso de la AME se relaciona directamente con la tasa de deterioro de las células motoneuronas y la gravedad resultante de la debilidad. Los lactantes con una forma grave de AME sucumben con frecuencia a enfermedades respiratorias debido a la debilidad en los músculos que soportan la respiración. Los niños con formas más leves de AME viven mucho más tiempo, aunque pueden necesitar un amplio apoyo médico, en especial los que están en el extremo más grave del espectro. El espectro clínico de los trastornos de la AME se ha dividido en los siguientes cinco grupos.

(a) La AME de tipo 0 (AME intrauterina) es la forma más grave de la enfermedad y comienza antes del nacimiento. Normalmente, el primer síntoma de la AME de tipo 0 es un movimiento reducido del feto que se puede observar primero entre las 30 y 36 semanas de embarazo. Después del nacimiento, estos recién nacidos tienen poco movimiento y tienen dificultades para tragar y respirar.

(b) La AME de tipo 1 (AME infantil o enfermedad de Werdnig-Hoffmann) presenta síntomas entre los 0 y 6 meses, la forma de AME también es muy grave. Los pacientes nunca logran la capacidad de sentarse, y normalmente se produce la muerte dentro de los primeros 2 años sin ventilación asistida.

(c) La AME de tipo 2 (AME intermedia) tiene una edad de inicio a los 7-18 meses. Los pacientes logran la capacidad de sentarse sin apoyo, pero nunca se tienen en pie ni caminan sin ayuda. El pronóstico en este grupo depende en gran medida del grado de afectación respiratoria.

(d) La AME de tipo 3 (AME juvenil o enfermedad de Kugelberg-Welander) se diagnostica, en general, después de

los 18 meses. Los individuos con AME de tipo 3 pueden caminar independientemente en algún momento durante el curso de la enfermedad, pero a menudo quedan limitados a una silla de ruedas durante la juventud o la edad adulta.

- 5 (e) La AME de tipo 4 (AME de inicio en adultos). Normalmente la debilidad comienza en la adolescencia tardía en la lengua, manos o pies, a continuación progresa a otras áreas del cuerpo. El curso de la AME en adultos es mucho más lento y tiene poco o ningún impacto en la esperanza de vida.

10 Se ha cartografiado el gen SMN por análisis de ligamiento a una región compleja en el cromosoma 5q. En seres humanos, esta región contiene una duplicación invertida de aproximadamente 500 mil pares de bases (kb) dando como resultado dos copias casi idénticas del gen SMN. La AME se provoca por una mutación inactivadora o delección de la copia telomérica del gen (SMN1) en ambos cromosomas, dando como resultado la pérdida de la función del gen SMN1. Sin embargo, todos los pacientes conservan la copia centromérica del gen (SMN2) y, en general, el número de copias del gen SMN2 en pacientes con AME se correlaciona inversamente con la gravedad de la enfermedad; es decir, los pacientes con AME menos grave tienen más copias de SMN2. No obstante, SMN2 no puede compensar completamente la pérdida de la función de SMN1 debido al empalme alternativo del exón 7 provocado por una mutación C a T traducionalmente sinónima en el exón 7. Como resultado, la mayoría de los transcritos producidos a partir de SMN2 carecen del exón 7 ($\Delta 7$ SMN2) y codifican una proteína SMN truncada que tiene una función deteriorada y se degrada rápidamente.

20 Se cree que la proteína SMN desempeña un papel en el procesamiento y metabolismo del ARN, teniendo una función bien caracterizada de mediación en el ensamblaje de una clase específica de complejos ARN-proteína denominados snRNP. SMN puede tener otras funciones en las motoneuronas, sin embargo, su papel en la prevención de la degeneración selectiva de las motoneuronas no está bien establecido.

25 En la mayoría de los casos, la AME se diagnostica en base a síntomas clínicos y por la presencia de al menos una copia de la prueba del gen SMN1. Sin embargo, en aproximadamente un 5 % de los casos, la AME se provoca por mutación en genes distintos de la inactivación de SMN1, algunos conocidos y otros aún no definidos. En algunos casos, cuando la prueba del gen SMN1 no es factible o no muestra ninguna anomalía, pueden estar indicadas otras pruebas tales como una electromiografía (EMG) o una biopsia muscular.

35 La atención médica para pacientes con AME en la actualidad se limita a tratamiento complementario, incluyendo atención respiratoria, nutricional y de rehabilitación; no se conoce ningún fármaco que aborde la causa subyacente de la enfermedad. El tratamiento actual para la AME consiste en la prevención y el control de los efectos secundarios de la pérdida crónica de la unidad motora. El principal problema de control en la AME de tipo 1 es la prevención y el tratamiento temprano de problemas pulmonares, que son la causa de la muerte en la mayoría de los casos. Si bien algunos lactantes afectados con AME llegan a ser adultos, aquellos con AME de tipo 1 tienen una esperanza de vida de menos de dos años.

40 Se han desarrollado varios modelos de ratón de AME. En particular, el modelo SMN delta exón 7 ($\Delta 7$ SMN) (*Le et al., Hum. Mol. Genet., 2005, 14:845*) porta tanto el gen SMN2 como varias copias del ADNc de $\Delta 7$ SMN2 y recapitula muchos de los rasgos característicos fenotípicos de la AME de tipo 1. El modelo $\Delta 7$ SMN se puede usar tanto para estudios de expresión de SMN2 como para la evaluación de la función motora y la supervivencia. El modelo de ratón con alelo C/C (*Jackson Laboratory, cepa n.º 008714, The Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME*) proporciona un modelo de enfermedad AME menos grave, teniendo los ratones niveles reducidos tanto de ARNm de SMN2 de longitud completa (FL SMN2) como de proteína SMN. El fenotipo de ratón con alelo C/C tiene el gen SMN2 y un gen mSMN1-SMN2 híbrido que experimenta empalme alternativo, pero no tiene debilidad muscular manifiesta. El modelo de ratón con alelo C/C se usa para estudios de expresión de SMN2.

50 Como resultado de un entendimiento mejorado de la base genética y la fisiopatología de la AME, se han explorado varias estrategias para el tratamiento, pero ninguna ha demostrado aún éxito en la clínica.

55 El reemplazo génico de SMN1, usando vectores de administración víricos, y el reemplazo celular, usando células madre SMN1^{+/+} diferenciadas, han demostrado eficacia en modelos animales de AME. Se necesita más investigación para determinar la seguridad y la respuesta inmunitaria y para abordar el requisito para el inicio del tratamiento en fase neonatal antes de que estos enfoques se puedan aplicar a seres humanos.

60 La corrección del empalme alternativo de SMN2 en células cultivadas también se ha logrado usando ácidos nucleicos sintéticos como agentes terapéuticos: (i) oligonucleótidos antisentido que se dirigen a elementos de secuencia en el pre-ARNm de SMN2 y desplazan el resultado de la reacción de empalme hacia la generación de ARNm de SMN2 de longitud completa (*Passini et al., Sci. Transl. Med., 2011, 3:72ra18*; y *Hua et al., Nature, 2011, 478:123*) y (ii) moléculas de ARN de empalme trans que proporcionan una secuencia de ARN completamente funcional que reemplaza el fragmento mutante durante el empalme y genera un ARNm de SMN1 de longitud completa (*Coady y Lorson, J. Neurosci., 2010, 30:126*).

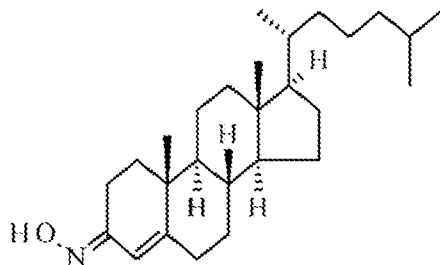
65 Otros enfoques bajo exploración incluyen la búsqueda de fármacos que incrementen los niveles de SMN,

potencien la función de SMN residual o compensen su pérdida. Se ha demostrado que los aminoglucósidos potencian la expresión de una proteína SMN estabilizada producida a partir del ARNm de $\Delta 7$ SMN2 promoviendo la ultralectura de traducción del codón de parada anómalo, pero tienen una mala penetración en el sistema nervioso central y son tóxicos después de una dosificación repetida. Se ha demostrado que los agentes quimioterápicos, tales como aclarrubicina, incrementan la proteína SMN en el cultivo celular; sin embargo, el perfil de toxicidad de estos fármacos prohíbe su uso a largo plazo en pacientes con AME. Algunos fármacos bajo investigación clínica para el tratamiento de AME incluyen activadores de la transcripción tales como inhibidores de histona desacetilasa ("HDAC") (por ejemplo, butiratos, ácido valproico e hidroxiurea) y estabilizantes de ARNm (inhibidor de la retirada de caperuza de ARNm RG3039 de Repligen), siendo el objetivo incrementar la cantidad de ARN total transcrito a partir del gen SMN2. Sin embargo, el uso de inhibidores de HDAC o estabilizantes de ARNm no aborda la causa subyacente de la AME y puede dar como resultado un incremento global en la transcripción y expresión génica con problemas de seguridad potenciales en seres humanos.

En un enfoque alternativo, se han elegido agentes citoprotectores tales como olesoxime para la investigación. Dichas estrategias no están dirigidas a SMN para el tratamiento de la AME, sino que se han desarrollado para proteger no solo las motoneuronas carentes de SMN de la neurodegeneración, sino también otros sistemas afectados por la enfermedad, tales como los miocitos. Olesoxime ha demostrado eficacia clínica en el tratamiento de la AME de tipo 2 (AME intermedia) y la AME de tipo 3 (AME juvenil, no ambulatoria).

Un sistema diseñado para identificar compuestos que incrementan la inclusión del exón 7 de SMN en el ARN transcrito del gen SMN2 y determinados compuestos de benzooxazol y benzoisoxazol identificados de este modo se han descrito en la *solicitud de patente internacional WO2009/151546A1*. Un sistema diseñado para identificar compuestos que provocan el desplazamiento del marco ribosómico para producir una proteína SMN estabilizada a partir de ARNm de $\Delta 7$ SMN2 y determinados compuestos de isoindolinona identificados de este modo se han descrito en las *solicitudes de patentes internacionales WO2010/019236A1 y WO2013/119916A2*.

Olesoxime (oxima de colest-4-en-3-ona, (EZ)-N-(colest-4-en-3-ilideno)hidroxilamina, número de registro CAS 22033-87-0) es un fármaco citoprotector que se ha descubierto que promueve la función y la supervivencia de las neuronas y otros tipos de células en condiciones de agresión pertinentes a la enfermedad a través de interacciones con el poro de transición de permeabilidad mitocondrial (mPTP).



El documento WO 20047082581 (A2) describe el uso de olesoxime para proporcionar neuroprotección en un paciente y el documento WO 2008/142231 (A2) describe composiciones farmacéuticas que lo comprenden.

Se han descrito procedimientos de sintetización de oximas de $\Delta 6$ -colestrenonas y olesoxime, por ejemplo, por el premio Nobel Adolf Friedrich Johann Butenandt (Butenandt A. *et al.*, *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft* (1936), 69B, 882-8) o por Ponsold K. *et al.* (*Journal fuer Praktische Chemie* (1964), 23(3-4), 173-6).

El modo de acción de olesoxime, su toxicidad, metabolismo y farmacodinamia se han descrito en Martin L.J. (*IDrugs* (2010) 13(8):568-80). *In vivo*, olesoxime rescata a las motoneuronas de la muerte celular inducida por una lesión nerviosa en ratas neonatales y promueve la regeneración nerviosa tras un aplastamiento nervioso en ratones adultos. Al promover tanto la regeneración axónica como la supervivencia de las motoneuronas, olesoxime es un enfoque terapéutico racional para la AME. Adicionalmente, existen pruebas de mejora funcional en modelos no clínicos de AME.

A nivel molecular, los datos de unión indicaron que olesoxime interactúa con dos proteínas de la membrana mitocondrial externa, lo que parece modular la apertura del complejo de poros de transición de permeabilidad mitocondrial (mPTP). Al unirse a estas proteínas, olesoxime puede conservar funciones mitocondriales esenciales, tales como la tamponación de calcio en las neuronas sometidas a agresión, reduciendo, de este modo, la degeneración y la muerte celular. Los efectos citoprotectores se observaron en neuronas primarias sometidas a agresión fisiológica, en cardiomiocitos primarios sometidos a toxicidad por antraciclina y también en hepatocitos de ratón sometidos a apoptosis inducida por Fas. Por tanto, olesoxime tiene el potencial de reducir la apoptosis patológica inducida por agresión en células neuronales así como no neuronales. Por lo tanto, estos sitios de unión pueden desempeñar un papel en la acción protectora neurológica, celular y tisular de olesoxime, puesto que la disfunción mitocondrial inducida por agresión se ha implicado en la mayoría de las enfermedades

neurodegenerativas. *In vivo*, el rescate de motoneuronas y la promoción de la regeneración nerviosa observados con el tratamiento con olesoxime confirman que olesoxime actúa tanto a nivel del cuerpo celular de la motoneurona como a nivel axónico y, potencialmente, tiene un efecto protector sobre el músculo (Pathak D *et al.* J Biological Chemistry (2015) 290(37):22325-36).

Olesoxime se ha desarrollado para el tratamiento de la AME de tipo 2 y tipo 3. El programa de desarrollo clínico de olesoxime estaba dirigido a demostrar el mantenimiento de la función motora durante un período de observación de dos años. El desarrollo clínico de olesoxime en AME incluye dos estudios clínicos, un estudio de farmacocinética y seguridad de fase Ib (TRO19622CLEQ1115-1) que usa una formulación de cápsula dura y un estudio de fase II (TRO19622CLEQ1275-1) que usa una formulación de suspensión oral. El estudio de fase II comparativo con placebo (TRO19622CLEQ1275-1) es actualmente el estudio clínico más grande y más prolongado que se haya llevado a cabo para esta indicación. El estudio mostró el mantenimiento de la función motora durante el período de tratamiento de dos años en el grupo de olesoxime en comparación con una disminución de aproximadamente dos puntos en el criterio de valoración principal (medida de la función motora [MFM]) en el grupo de placebo, lo que está en consonancia con la progresión natural de la enfermedad informada (Vuillerot C *et al.* Arch Phys Med Rehabil (2013) 94(8):1555-61). El estudio de fase II demostró un perfil beneficio-riesgo positivo para olesoxime para el tratamiento de pacientes con AME de tipos 2 y 3.

El documento WO2015/173181A1 divulga la preparación de compuestos de fórmula (I) y su uso como moduladores de empalme del gen SMN2 para el tratamiento, retraso de la progresión o mejora de la AME.

A pesar de los avances realizados en el entendimiento de la base genética y la fisiopatología de la AME, sigue existiendo la necesidad de identificar compuestos y combinaciones de compuestos y formas adecuadas de administración de los mismos que modifiquen el curso de la atrofia muscular espinal, una de las enfermedades neurológicas infantiles más devastadoras.

Descripción detallada de la invención

La invención se define por las reivindicaciones adjuntas.

A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que se entiende comúnmente por un experto en la técnica a la que pertenece la presente invención.

La nomenclatura usada en la presente solicitud se basa en la nomenclatura sistemática de la IUPAC, a menos que se indique de otro modo.

Cualquier valencia abierta que aparezca en un átomo de carbono, oxígeno, azufre o nitrógeno en las estructuras en el presente documento indica la presencia de un hidrógeno, a menos que se indique de otro modo.

Las definiciones descritas en el presente documento se aplican independientemente de si los términos en cuestión aparecen solos o en combinación. Se contempla que las definiciones descritas en el presente documento se pueden adjuntar para formar combinaciones químicamente pertinentes, tales como, por ejemplo, "heterocicloalquilarilo", "haloalquilheteroarilo", "arilalquilheterocicloalquilo" o "alcoxialquilo". El último miembro de la combinación es el radical que se une al resto de la molécula. Los otros miembros de la combinación se unen al radical de unión en orden inverso con respecto a la secuencia literal, por ejemplo, la combinación amino-alquilo C₁₋₇ se refiere a un alquilo C₁₋₇ que se sustituye con amino, o por ejemplo, la combinación arilalquilheterocicloalquilo se refiere a un radical heterocicloalquilo que se sustituye con un alquilo que se sustituye con un arilo.

El término "resto" se refiere a un átomo o grupo de átomos químicamente enlazados que se une a otro átomo o molécula por uno o más enlaces químicos formando, de este modo, parte de una molécula. Por ejemplo, las variables A, R¹, R² y R³ de fórmula (I) se refieren a restos que se unen a la estructura central de fórmula (I) por un enlace covalente.

Cuando se indica el número de sustituyentes, el término "uno o más" se refiere al intervalo de un sustituyente al mayor número posible de sustitución, es decir, del reemplazo de un hidrógeno hasta el reemplazo de todos los hidrógenos por sustituyentes.

El término "opcional" u "opcionalmente" indica que se puede producir, pero no necesariamente, un acontecimiento o circunstancia descrito posteriormente, y que la descripción incluye casos donde se produce el acontecimiento o circunstancia y casos en los que no.

El término "sustituyente" indica un átomo o un grupo de átomos que reemplazan un átomo de hidrógeno en la molécula original.

El término "sustituido" indica que un grupo especificado tiene uno o más sustituyentes. Cuando cualquier grupo

- 5 puede portar múltiples sustituyentes y se proporciona una variedad de posibles sustituyentes, los sustituyentes se seleccionan independientemente y no necesitan ser los mismos. El término "no sustituido" quiere decir que el grupo especificado no tiene ningún sustituyente. El término "opcionalmente sustituido" quiere decir que el grupo especificado es no sustituido o se sustituye con uno o más sustituyentes, elegidos independientemente del grupo de posibles sustituyentes. Cuando se indica el número de sustituyentes, el término "uno o más" quiere decir de un sustituyente al mayor número posible de sustitución, es decir, del reemplazo de un hidrógeno hasta el reemplazo de todos los hidrógenos por sustituyentes.
- 10 El término "compuesto(s) de la presente invención" se refiere a compuestos como se divulga en el presente documento y estereoisómeros, tautómeros, solvatos y sales (por ejemplo, sales farmacéuticamente aceptables) de los mismos.
- 15 Cuando los compuestos de la invención son sólidos, se entiende por los expertos en la técnica que estos compuestos, y sus solvatos y sales, pueden existir en diferentes formas sólidas, en particular diferentes formas cristalinas, de las que todas están destinadas a estar dentro del alcance de la presente invención y fórmulas especificadas.
- 20 El término "sales farmacéuticamente aceptables" indica sales que no son biológicamente o de otro modo indeseables. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen sales de adición tanto de ácido como de base.
- 25 El término "sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable" indica las sales farmacéuticamente aceptables formadas con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido carbónico, ácido fosfórico, y ácidos orgánicos seleccionados de las clases alifática, cicloalifática, aromática, aralifática, heterocíclica, carboxílica y sulfónica de ácidos orgánicos tales como ácido fórmico, ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido glucónico, ácido láctico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido málico, ácido maleico, ácido malónico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido aspártico, ácido ascórbico, ácido glutámico, ácido antranílico, ácido benzoico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácido embónico, ácido fenilacético, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido p-toluenosulfónico y ácido salicílico.
- 30 El término "sal de adición de base farmacéuticamente aceptable" indica las sales farmacéuticamente aceptables formadas con una base orgánica o inorgánica. Los ejemplos de bases inorgánicas aceptables incluyen sales de sodio, potasio, amonio, calcio, magnesio, hierro, cinc, cobre, manganeso y aluminio. Las sales derivadas de bases no tóxicas orgánicas farmacéuticamente aceptables incluyen sales de aminas primarias, secundarias y terciarias, aminas sustituidas incluyendo aminas sustituidas naturales, aminas cíclicas y resinas de intercambio iónico básicas, tales como isopropilamina, trimetilamina, dietilamina, trietilamina, tripropilamina, etanolamina, 2-dietilaminoetanol, trimetamina, dicitlohexilamina, lisina, arginina, histidina, cafeína, procaína, hidrabamina, colina, betaína, etilendiamina, glucosamina, metilglucamina, teobromina, purinas, pipericina, piperidina, N-etilpiperidina y resinas de poliamina.
- 35 40 Las definiciones y convenciones estereoquímicas usadas en el presente documento siguen en general S. P. Parker, Ed., McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms (1984) McGraw-Hill Book Company, New York; y Eliel, E. y Wilen, S., "Stereochemistry of Organic Compounds", John Wiley & Sons, Inc., New York, 1994. Al describir un compuesto ópticamente activo, se usan los prefijos D y L, o R y S, para indicar la configuración absoluta de la molécula sobre su(s) centro(s) quiral(es). Los sustituyentes unidos al centro quiral en consideración se ordenan de acuerdo con la regla de secuencia de Cahn, Ingold y Prelog. (Cahn *et al.* Angew. Chem. Inter. Edit. 1966, 5, 385; errata 511). Los prefijos D y L o (+) y (-) se emplean para designar el signo de rotación de la luz polarizada en un plano por el compuesto, designando (-) o L que el compuesto es levógiro. Un compuesto con el prefijo (+) o D es dextrógiro.
- 45 50 El término "centro quiral" indica un átomo de carbono enlazado a cuatro sustituyentes no idénticos. El término "quiral" indica la capacidad de no superposición con la imagen especular, mientras que el término "aquiral" se refiere a modos de realización que son superponibles con su imagen especular. Las moléculas quirales son ópticamente activas, es decir, tienen la capacidad de girar el plano de la luz polarizada en un plano.
- 55 60 Los compuestos de la presente invención pueden tener uno o más centros quirales y pueden existir en forma de enantiómeros ópticamente puros, mezclas de enantiómeros tales como, por ejemplo, racematos, diastereoisómeros ópticamente puros, mezclas de diastereoisómeros, racematos diastereoisómeros o mezclas de racematos diastereoisómeros. Siempre que un centro quiral está presente en una estructura química, se pretende que todos los estereoisómeros asociados con ese centro quiral se engloben por la presente invención.
- 65 Los términos "halo", "halógeno" y "haluro" se usan de manera intercambiable en el presente documento e indican fluoro, cloro, bromo o yodo. Un ejemplo particular de halógeno es fluoro.
- El término "alquilo" indica un grupo hidrocarburo saturado lineal o ramificado monovalente de 1 a 12 átomos de carbono. En modos de realización particulares, el alquilo tiene de 1 a 7 átomos de carbono y, en modos de realización más particulares, de 1 a 4 átomos de carbono. Los ejemplos de alquilo incluyen metilo, etilo, propilo,

isopropilo, n-butilo, iso-butilo, sec-butilo o *terc*-butilo. Los ejemplos particulares para alquilo son metilo y etilo.

El término "haloalquilo" indica un grupo alquilo en el que al menos uno de los átomos de hidrógeno del grupo alquilo se ha reemplazado por átomos de halógeno iguales o diferentes, en particular, átomos de flúor. Los ejemplos de haloalquilo incluyen monofluoro-, difluoro- o trifluoro-metilo, -etilo o -propilo, por ejemplo 3,3,3-trifluoropropilo, 2-fluoroetilo, 2,2,2-trifluoroetilo, fluorometilo o trifluorometilo y similares. El término "perhaloalquilo" indica un grupo alquilo donde todos los átomos de hidrógeno del grupo alquilo se han reemplazado por átomos de halógeno iguales o diferentes.

El término "sistema de anillo bicíclico" indica dos anillos que se condensan entre sí por medio de un enlace sencillo o doble común (sistema de anillo bicíclico anillado), por medio de una secuencia de tres o más átomos comunes (sistema de anillo bicíclico con puente) o por medio de un único átomo común (sistema de anillo bicíclico espiro). Los sistemas de anillo bicíclicos pueden ser saturados, parcialmente insaturados, insaturados o aromáticos. Los sistemas de anillo bicíclicos pueden comprender heteroátomos seleccionados de N, O y S.

El término "cicloalquilo" indica un grupo hidrocarburo monocíclico o bicíclico saturado de 3 a 10 átomos de carbono de anillo. En modos de realización particulares, cicloalquilo indica un grupo hidrocarburo monocíclico saturado monovalente de 3 a 8 átomos de carbono de anillo. Bicíclico quiere decir que consiste en dos carbociclos saturados que tienen uno o más átomos de carbono en común. Los grupos cicloalquilo particulares son monocíclicos. Los ejemplos para cicloalquilo monocíclico son ciclopropilo, ciclobutano, ciclopentilo, ciclohexilo o cicloheptilo. Los ejemplos para cicloalquilo bicíclico son biciclo[2.2.1]heptano o biciclo[2.2.2]octano. Un ejemplo particular de cicloalquilo es ciclopropilo.

El término "heterocicloalquilo" indica un sistema de anillo mono-, bi- o tricíclico saturado o parcialmente insaturado de 3 a 9 átomos de anillo, que comprende 1, 2 o 3 heteroátomos de anillo seleccionados de N, O y S, siendo los restantes átomos de anillo carbono. En modos de realización particulares, el heterocicloalquilo es un sistema de anillo monocíclico saturado monovalente de 4 a 7 átomos de anillo, que comprende 1, 2 o 3 heteroátomos de anillo seleccionados de N, O y S, siendo los restantes átomos de anillo carbono. Los ejemplos de heterocicloalquilo saturado monocíclico son acridinilo, oxiranilo, acetidinilo, oxetanilo, pirrolidinilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidrotienilo, pirazolidinilo, imidazolidinilo, oxazolidinilo, isoxazolidinilo, tiazolidinilo, piperidinilo, tetrahidropirano, tetrahidrotiopirano, piperacino, morfolino, tiomorfolino, 1,1-dioxo-tiomorfolin-4-ilo, acepanilo, diacepanilo, homopiperacino u oxacepanilo. Los ejemplos para heterocicloalquilo saturado bicíclico son 8-aza-biciclo[3.2.1]octilo, quinuclidinilo, 8-oxa-3-aza-biciclo[3.2.1]octilo, 9-aza-biciclo[3.3.1]nonilo, 3-oxa-9-aza-biciclo[3.3.1]nonilo o 3-tia-9-aza-biciclo[3.3.1]nonilo. Los ejemplos de un heterocicloalquilo parcialmente insaturado son dihidrofurilo, imidazolinilo, dihidro-oxazolilo, tetrahidro-piridinilo o dihidropirano. Los ejemplos particulares de heterocicloalquilo son 1,4-diacepanilo, hexahidropirrol[1,2-a]piracino, piperacino y pirrolidinilo. Los ejemplos más particulares de heterocicloalquilo son hexahidropirrol[1,2-a]piracino y piperacino.

El término "N-heterocicloalquilo" indica un radical heterocicloalquilo que contiene al menos un átomo de anillo de nitrógeno y donde el punto de unión del radical heterocicloalquilo al resto de la molécula es a través de un átomo de anillo de nitrógeno. Los ejemplos particulares de N-heterocicloalquilo son 1,4-diacepanilo, hexahidropirrol[1,2-a]piracino, piperidino, piperacino y pirrolidinilo. Los ejemplos más particulares de N-heterocicloalquilo son hexahidropirrol[1,2-a]piracino y piperacino.

El término "basicidad" en referencia a un compuesto se expresa en el presente documento por el logaritmo decimal negativo de la constante de acidez del ácido conjugado ($pK_a = -\log K_a$). Cuanto mayor es el pK_a del ácido conjugado, más fuerte es la base ($pK_a + pK_b = 14$). En la presente solicitud, un átomo o grupo funcional se indica "básico" si es adecuado para aceptar un protón y si el pK_a calculado de su ácido conjugado es de al menos 7, más en particular si el pK_a calculado de su ácido conjugado es de al menos 7,8, lo más en particular si el pK_a calculado de su ácido conjugado es de al menos 8. Los valores de pK_a se calcularon *in silico* como se describe en F. Milletti *et al.*, *J. Chem. Inf. Model* (2007) 47:2172-2181.

El término "alquileno" indica un grupo hidrocarburo divalente saturado lineal de 1 a 7 átomos de carbono o un grupo hidrocarburo saturado ramificado divalente de 3 a 7 átomos de carbono. Los ejemplos de grupos alquileno incluyen metileno, etileno, propileno, 2-metilpropileno, butileno, 2-etilbutileno, pentileno, hexileno. Los ejemplos particulares para alquileno son etileno, propileno y butileno.

El término "amino" indica un grupo de la fórmula $-NR'R''$ en el que R' y R'' son independientemente hidrógeno, alquilo, alcoxi, cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo, heteroarilo o como se describe en el presente documento. De forma alternativa, R' y R'' , conjuntamente con el nitrógeno al que están unidos, pueden formar un heterocicloalquilo. El término "amino primario" indica un grupo en el que tanto R' como R'' son hidrógeno. El término "amino secundario" indica un grupo en el que R' es hidrógeno y R'' es un grupo distinto de hidrógeno. El término "amino terciario" indica un grupo en el que tanto R' como R'' son distintos de hidrógeno. Las aminas secundarias y terciarias particulares son metilamina, etilamina, propilamina, isopropilamina, fenilamina, bencilamina dimetilamina, dietilamina, dipropilamina y diisopropilamina.

El término "ingrediente farmacéutico activo" (o "IFA") indica el compuesto o molécula en una composición farmacéutica que tiene una actividad biológica particular.

5 Los términos "composición farmacéutica" y "formulación farmacéutica" (o "formulación") se usan de manera intercambiable e indican una mezcla o solución que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un ingrediente farmacéutico activo conjuntamente con excipientes farmacéuticamente aceptables que se van a administrar a un mamífero, por ejemplo, un ser humano que necesita el mismo.

10 El término "farmacéuticamente aceptable" indica un atributo de un material que es útil en la preparación de una composición farmacéutica que en general es segura, no tóxica y ni biológicamente ni de otro modo indeseable y es aceptable para uso farmacéutico veterinario así como humano.

15 Los términos "excipiente farmacéuticamente aceptable", "vehículo farmacéuticamente aceptable" y "excipiente terapéuticamente inerte" se pueden usar de manera intercambiable e indican cualquier ingrediente farmacéuticamente aceptable en una composición farmacéutica que no tenga actividad terapéutica y que no sea tóxico para el sujeto al que se le administra, tal como disgregantes, aglutinantes, rellenos, disolventes, tampones, agentes de tonicidad, estabilizantes, antioxidantes, tensioactivos, vehículos, diluyentes o lubricantes usados en la formulación de productos farmacéuticos.

20 Los términos "individuo" o "sujeto" se refieren a un mamífero. Los mamíferos incluyen, pero no se limitan a, animales domesticados (por ejemplo, vacas, ovejas, gatos, perros y caballos), primates (por ejemplo, seres humanos y primates no humanos, tales como monos), conejos y roedores (por ejemplo, ratones y ratas). En determinados modos de realización, el individuo o sujeto es un ser humano.

25 El término "cantidad terapéuticamente eficaz" indica una cantidad de un compuesto o molécula de la presente invención que, cuando se administra a un sujeto, (i) trata o evita la enfermedad, afección o trastorno particular, (ii) atenúa, mejora o elimina uno o más síntomas de la enfermedad, afección o trastorno particular, o (iii) evita o retrasa la aparición de uno o más síntomas de la enfermedad, afección o trastorno particular descrito en el presente documento. La cantidad terapéuticamente eficaz variará dependiendo del compuesto, el estado de enfermedad que se está tratando, la gravedad de la enfermedad tratada, la edad y salud relativa del sujeto, la vía y forma de administración, el criterio del médico especialista o veterinario y otros factores.

30 Los términos "tratar" o "tratamiento" de un estado de enfermedad incluyen inhibir el estado de enfermedad, es decir, detener el desarrollo del estado de enfermedad o sus síntomas clínicos, o aliviar el estado de enfermedad, es decir, provocar una regresión temporal o permanente del estado de enfermedad o sus síntomas clínicos.

35 El término "atrofia muscular espinal" (o AME) se refiere a una enfermedad provocada por una mutación inactivadora o delección en el gen SMN1 en ambos cromosomas, dando como resultado una pérdida de la función del gen SMN1.

40 Los síntomas de AME incluyen debilidad muscular, tono muscular insuficiente, llanto débil, tos débil, cojera o tendencia a flacidez, dificultad para chupar o tragar, dificultad para respirar, acumulación de secreciones en los pulmones o la garganta, puños cerrados con la mano sudorosa, oscilación/vibración de la lengua, cabeza inclinada a menudo hacia un lado, incluso cuando se está acostado, piernas que tienden a ser más débiles que los brazos, piernas que con frecuencia asumen una posición de "ancas de rana", dificultades en la alimentación, susceptibilidad incrementada a infecciones respiratorias, debilidad intestinal/vesical, peso menor de lo normal, incapacidad para sentarse sin apoyo, incapacidad para caminar, incapacidad para gatear e hipotonía, arreflexia y contracturas congénitas múltiples (artrogriposis) asociadas con la pérdida de células del asta anterior.

45 El término "tratar la atrofia muscular espinal (AME)" o "tratamiento de la atrofia muscular espinal (AME)" incluye uno o más de los siguientes efectos: (i) reducción o mejora de la gravedad de AME; (ii) retraso del inicio de AME; (iii) inhibición de la progresión de AME; (iv) reducción de la hospitalización de un sujeto; (v) reducción de la duración de hospitalización de un sujeto; (vi) incremento de la supervivencia de un sujeto; (vii) mejora de la calidad de vida de un sujeto; (viii) reducción del número de síntomas asociados con AME; (ix) reducción o mejora de la gravedad de uno o más síntomas asociados con AME; (x) reducción de la duración de un síntoma asociado con AME; (xi) prevención de la recidiva de un síntoma asociado con AME; (xii) inhibición del desarrollo o inicio de un síntoma de AME; y/o (xiii) inhibición de la progresión de un síntoma asociado con AME.

50 Más particular, el término "tratar la AME" indica uno o más de los siguientes efectos beneficiosos: (i) una reducción en la pérdida de fuerza muscular; (ii) un incremento en la fuerza muscular; (iii) una reducción en la atrofia muscular; (iv) una reducción en la pérdida de la función motora; (v) un incremento en las motoneuronas; (vi) una reducción en la pérdida de motoneuronas; (vii) protección de las motoneuronas carentes de SMN contra la degeneración; (ix) un incremento en la función motora; (x) un incremento en la función pulmonar; y/o (xi) una reducción en la pérdida de la función pulmonar.

Con más detalle, el término "tratar la AME" se refiere a la capacidad funcional o retención de la capacidad funcional para que un lactante humano o un niño pequeño humano se siente sin ayuda o para que un lactante humano, un niño pequeño humano, un niño humano o un adulto humano esté de pie sin ayuda, camine sin ayuda, corra sin ayuda, respire sin ayuda, se gire mientras duerme sin ayuda o trague sin ayuda.

5

El término "concentración CE_{1,5x} para la producción de ARNm del minigén SMN2 de longitud completa" (o "CE_{1,5x} de minigén") se define como la concentración del compuesto de prueba que es eficaz para incrementar la cantidad de ARNm del minigén SMN2 de longitud completa hasta un nivel 1,5 veces mayor en relación con las células tratadas con vehículo.

10

El término "concentración CE_{1,5x} para la expresión de proteína SMN" (o "CE_{1,5x} de proteína SMN") se define como la concentración del compuesto de prueba que es eficaz para producir 1,5 veces la cantidad de proteína SMN en una célula fibroblasto del paciente con AME en comparación con la cantidad producida a partir del control de vehículo.

15

El término "concentración eficaz semimáxima" (CE50) indica la concentración plasmática de un compuesto o molécula particular requerida para obtener un 50 % del máximo de un efecto particular *in vivo*.

20

Un "vehículo farmacéuticamente aceptable" se refiere a un ingrediente en una composición farmacéutica, distinto de un ingrediente activo, que no es tóxico para un sujeto. Un vehículo farmacéuticamente aceptable incluye, pero no se limita a, un tampón o acidulante, excipiente, estabilizador o conservante.

25

El término "tampón" o "sistema tampón" indica un excipiente o mezcla de excipientes farmacéuticamente aceptable, que estabiliza el pH de una preparación farmacéutica. Los tampones adecuados son bien conocidos en la técnica y se pueden encontrar en la literatura. Los tampones farmacéuticamente aceptables particulares comprenden tampón cítrico, tampón malato, tampón maleato o tampón tartrato, lo más en particular, tampón tartrato. Los sistemas tampón particulares de la invención, combinaciones de ácido orgánico y sales seleccionadas del mismo, por ejemplo, citrato de sodio tribásico y ácido cítrico, ácido málico y malato de sodio, tartrato de sodio y potasio y ácido tartárico, o tartrato disódico y ácido tartárico, en particular, tartrato de sodio y potasio y ácido tartárico. De forma alternativa, el ácido orgánico (en particular, ácido tartárico) se puede emplear solo como "acidulante" en lugar de la combinación de ácido y la sal correspondiente. Independientemente del tampón usado, el pH se puede ajustar con un ácido o una base conocido en la técnica, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido acético, ácido fosfórico, ácido sulfúrico y ácido cítrico, hidróxido de sodio e hidróxido de potasio. Un acidulante particular es el ácido tartárico.

35

El término "antioxidante" indica excipientes farmacéuticamente aceptables que evitan la oxidación del ingrediente farmacéutico activo. Los antioxidantes comprenden ácido ascórbico, glutatión, cisteína, metionina, ácido cítrico, EDTA.

40

El término "tensoactivo" indica un excipiente farmacéuticamente aceptable que se usa para proteger composiciones proteicas contra tensiones mecánicas como agitación y cizallamiento. Los ejemplos de tensoactivos farmacéuticamente aceptables incluyen poloxámeros, polisorbatos, éteres de polioxietileno alquílico (BRIJ®), éteres de alquilfenilpolioxietileno (TRITON-X®) o dodecilsulfato de sodio (SDS).

45

El término "poloxámero" indica copolímeros en tribloque no iónicos compuestos por una cadena hidrófoba central de poli(óxido de propileno) (PPO) flanqueada por dos cadenas hidrófilas de poli(óxido de etileno) (PEO), cada cadena de PPO o PEO puede ser de diferentes pesos moleculares. Los poloxámeros también son conocidos con el nombre comercial Pluronic. Un poloxámero particular es el poloxámero 188, un poloxámero en el que la cadena de PPO tiene una masa molecular de 1800 g/mol y un contenido de PEO de un 80 % (p/p).

50

El término "polisorbato" indica ésteres oleato de sorbitol y sus anhídridos, típicamente copolimerizados con óxido de etileno. Los polisorbatos particulares son el polisorbato 20 (poli(óxido de etileno) (20) monolaurato de sorbitán, TWEEN 20®) o el polisorbato 80 (poli(óxido de etileno) (80) monolaurato de sorbitán, TWEEN 80®).

55

El valor del "equilibrio hidrófilo-lipófilo" (HLB) indica el grado de hidrofilia de un tensoactivo no iónico. El valor HLB se determina por la proporción entre la masa molecular de la porción hidrófila de la molécula de tensoactivo y su masa molecular global, como se describe por Griffin W.C., Journal of the Society of Cosmetic Chemists (1949) 1:311.

60

El término "hidrófilo" indica la capacidad de una molécula o porción de una molécula para interactuar con disolventes polares, en particular con agua, o con otros restos polares impulsada por enlaces de hidrógeno, interacciones dipolo-ion y/o interacciones dipolo-dipolo.

65

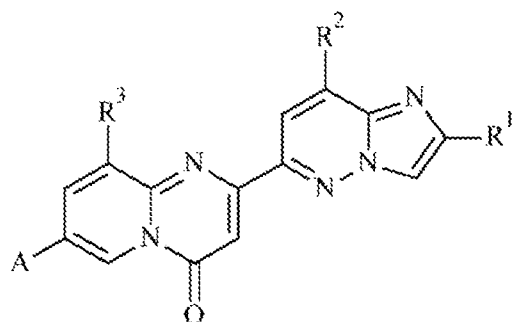
Los términos "lipófilo" e "hidrófobo" se pueden usar de manera intercambiable e indican la tendencia de una molécula o porción de una molécula a disolverse en un entorno no polar tal como grasas, aceites y disolventes no polares impulsada por las fuerzas de dispersión de London.

El valor "logP" indica el logaritmo decimal del coeficiente de partición P y es una medida de lipofilia de un compuesto neutro sin carga. En la presente solicitud, el coeficiente de partición P se determina por la proporción entre la concentración de soluto en la fase orgánica, en particular 1-octanol, y su concentración en la fase acuosa en equilibrio.

Compuestos de fórmula (I)

En detalle, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende 7-(4,7-díazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, en la que la composición es una solución acuosa oral o un polvo seco adecuado para la constitución de una solución acuosa oral, en la que la solución acuosa oral tiene un pH de menos de pH 4 como se define en la reivindicación 1.

La divulgación también se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I)



(I)

en la que

R¹ es hidrógeno o alquilo C₁₋₇;

R² es hidrógeno, ciano, alquilo C₁₋₇, haloalquilo C₁₋₇ o cicloalquilo C₃₋₈;

R³ es hidrógeno, alquilo C₁₋₇ o cicloalquilo C₃₋₈;

A es N-heterocicloalquilo o NR¹²R¹³, en el que N-heterocicloalquilo comprende 1 o 2 átomos de anillo de nitrógeno y se sustituye opcionalmente con 1, 2, 3 o 4 sustituyentes seleccionados de R¹⁴;

R¹² es heterocicloalquilo que comprende 1 átomo de anillo de nitrógeno, en el que el heterocicloalquilo se sustituye opcionalmente con 1, 2, 3 o 4 sustituyentes seleccionados de R¹⁴;

R¹³ es hidrógeno, alquilo C₁₋₇ o cicloalquilo C₃₋₈;

R¹⁴ se selecciona independientemente de hidrógeno, alquilo C₁₋₇, amino, amino-alquilo C₁₋₇, cicloalquilo C₃₋₈ y heterocicloalquilo o dos R¹⁴ conjuntamente forman alquileno C₁₋₇;

con la condición de que si A es N-heterocicloalquilo que comprende solo 1 átomo de anillo de nitrógeno, entonces al menos un sustituyente R¹⁴ es amino o amino-alquilo C₁₋₇;

o sales farmacéuticamente aceptables del mismo;

en la que la composición es una solución acuosa oral o un polvo seco adecuado para la constitución de una solución acuosa oral.

Una divulgación particular es una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

En una divulgación particular:

R¹ es hidrógeno o alquilo C₁₋₇;

R² es hidrógeno, ciano, alquilo C₁₋₇, haloalquilo C₁₋₇ o cicloalquilo C₃₋₈;

R³ es hidrógeno, alquilo C₁₋₇ o cicloalquilo C₃₋₈;

A es N-heterocicloalquilo que comprende 1 o 2 átomos de anillo de nitrógeno, en el que N-heterocicloalquilo se sustituye opcionalmente con 1, 2, 3 o 4 sustituyentes seleccionados de R¹⁴;

5 R¹⁴ se selecciona independientemente de hidrógeno, alquilo C₁₋₇, amino, amino-alquilo C₁₋₇, cicloalquilo C₃₋₈ y heterocicloalquilo o dos R¹⁴ conjuntamente forman alquileno C₁₋₇;

con la condición de que si A es N-heterocicloalquilo que comprende solo 1 átomo de anillo de nitrógeno, entonces al menos un sustituyente R¹⁴ es amino o amino-alquilo C₁₋₇.

10

En una divulgación particular, R¹ es alquilo C₁₋₇, en particular, metilo.

En una divulgación particular, R² es hidrógeno o alquilo C₁₋₇, en particular, hidrógeno o metilo.

15 En una divulgación particular, R³ es hidrógeno o alquilo C₁₋₇, en particular, hidrógeno o metilo.

En una divulgación particular, R¹² es piperidinilo opcionalmente sustituido con 1, 2, 3 o 4 sustituyentes seleccionados de R¹⁴.

20 En una divulgación particular, R¹³ es hidrógeno o alquilo C₁₋₇, en particular, hidrógeno o metilo.

En una divulgación particular, R¹⁴ se selecciona independientemente de alquilo C₁₋₇ y heterocicloalquilo o dos R¹⁴ conjuntamente forman alquileno C₁₋₇.

25 En una divulgación particular, R¹⁴ se selecciona independientemente de metilo, etilo y pirrolidinilo o dos R¹⁴ conjuntamente forman etileno.

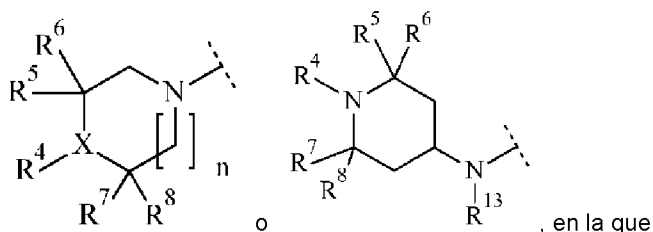
En una divulgación particular, A es un N-heterocicloalquilo mono- o bicíclico saturado que comprende 1 o 2 átomos de nitrógeno y se sustituye opcionalmente con 1, 2, 3 o 4 sustituyentes seleccionados de R¹⁴.

30

En una divulgación particular, el N-heterocicloalquilo en A o el heterocicloalquilo en R¹² como se define en el presente documento se sustituyen con 1 o 2 sustituyentes seleccionados de R¹⁴.

35 En una divulgación particular, el N-heterocicloalquilo en A como se define en el presente documento se caracteriza además por que uno de los átomos de nitrógeno de anillo es básico.

En una divulgación particular, A es



40

X es N o CH;

R⁴ es hidrógeno, alquilo C₁₋₇ o -(CH₂)_m-NR⁹R¹⁰;

45 R⁵ es hidrógeno o alquilo C₁₋₇;

R⁶ es hidrógeno o alquilo C₁₋₇;

50 R⁷ es hidrógeno o alquilo C₁₋₇;

R⁸ es hidrógeno o alquilo C₁₋₇;

R⁹ y R¹⁰ se seleccionan independientemente de hidrógeno, alquilo C₁₋₇ y cicloalquilo C₃₋₈;

55 R¹³ es hidrógeno, alquilo C₁₋₇ o cicloalquilo C₃₋₈;

n es 0, 1 o 2;

m es 0, 1, 2 o 3;

o R⁴ y R⁵ conjuntamente forman un alquileno C₁₋₇;

5 o R⁴ y R⁷ conjuntamente forman un alquileno C₁₋₇;

o R⁵ y R⁶ conjuntamente forman un alquileno C₂₋₇;

10 o R⁵ y R⁷ conjuntamente forman un alquileno C₁₋₇;

o R⁵ y R⁹ conjuntamente forman un alquileno C₁₋₇;

o R⁷ y R⁸ conjuntamente forman un alquileno C₂₋₇;

15 o R⁷ y R⁹ conjuntamente forman un alquileno C₁₋₇;

o R⁹ y R¹⁰ conjuntamente forman un alquileno C₂₋₇;

20 con la condición de que si X es CH entonces R⁴ es -(CH₂)_m-NR⁹R¹⁰; y

con la condición de que si X es N y R⁴ es -(CH₂)_m-NR⁹R¹⁰ entonces m es 2 o 3.

Se ha descubierto que se mejora la penetración cerebral cuando al menos uno de R⁴, R⁵, R⁶, R⁷ y R⁸ no es hidrógeno.

25 En una divulgación particular al menos uno de R⁴, R⁵, R⁶, R⁷ y R⁸ es distinto de hidrógeno.

En una divulgación particular, X es N.

30 En una divulgación particular, n es 1.

En una divulgación particular, R⁴ es hidrógeno, metilo o -(CH₂)_m-NR⁹R¹⁰, más en particular, hidrógeno.

35 En una divulgación particular, R⁵ es hidrógeno, metilo o etilo, más en particular, metilo.

En una divulgación particular, R⁶ es hidrógeno o metilo, más en particular, hidrógeno.

En una divulgación particular, R⁷ es hidrógeno o metilo.

40 En una divulgación particular, R⁸ es hidrógeno.

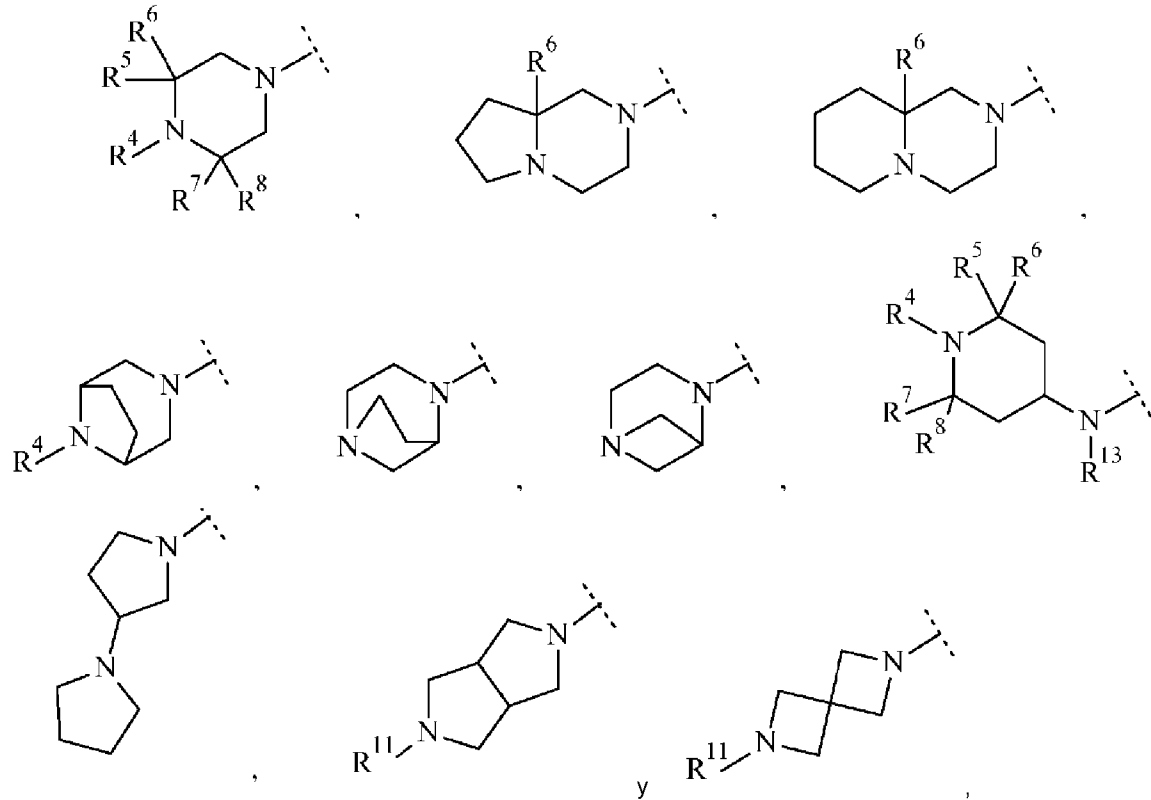
En una divulgación particular, m es 0.

45 En una divulgación particular, R⁴ y R⁵ conjuntamente forman propileno.

En una divulgación particular, R⁵ y R⁶ conjuntamente forman etileno;

En una divulgación particular, R⁹ y R¹⁰ conjuntamente forman butileno.

50 En una divulgación particular, A se selecciona del grupo de:



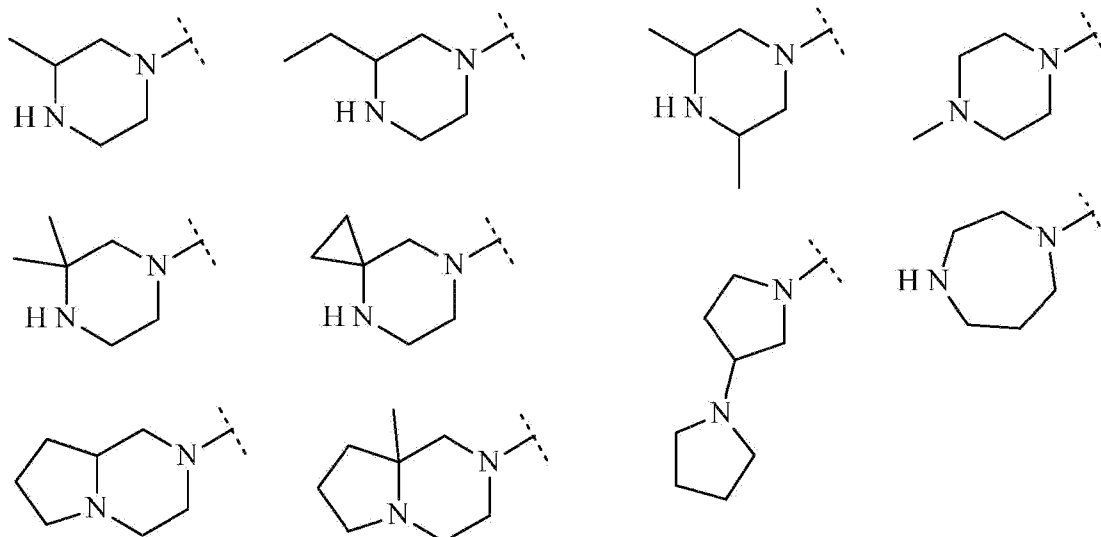
5 en los que R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , R^8 y R^{13} son como se define en el presente documento y en los que R^{11} es hidrógeno o alquilo C_{1-7} .

10 En una divulgación particular, A se selecciona del grupo de piperacínilo, diacepanilo, pirrolidinilo y hexahidropirrololo[1,2-a]piracínilo, cada uno opcionalmente sustituido con 1, 2, 3 o 4 sustituyentes seleccionados de R^{14} como se define en el presente documento.

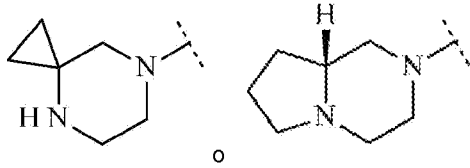
En una divulgación particular, A se selecciona del grupo de piperacín-1-ilo, 1,4-diacepán-1-ilo, pirrolidin-1-ilo y hexahidropirrololo[1,2-a]piracín-2(1H)-ilo, cada uno opcionalmente sustituido con 1 o 2 sustituyentes seleccionados de R^{14} como se define en el presente documento.

15 En una divulgación particular, A es $NR^{12}R^{13}$, en el que R^{12} y R^{13} son como se describe en el presente documento.

En una divulgación particular, A se selecciona del grupo de:

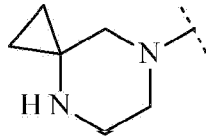


En una divulgación particular, R¹ es metilo, R² es hidrógeno o metilo, R³ es hidrógeno y A es



5

En una divulgación particular, R¹ es metilo, R² es metilo, R³ es



hidrógeno y A es

10 En una divulgación particular, el compuesto de fórmula (I) se selecciona del grupo que consiste en:

2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-7-(4-metilpiperacin-1-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona;

15

7-[(8aR)-3,4,6,7,8,8a-hexahidro-1H-pirrolo[1,2-a]piracin-2-il]-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona;

7-[(8aS)-3,4,6,7,8,8a-hexahidro-1H-pirrolo[1,2-a]piracin-2-il]-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona;

20

7-[(8aR)-3,4,6,7,8,8a-hexahidro-1H-pirrolo[1,2-a]piracin-2-il]-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona;

7-[(8aS)-8a-metil-1,3,4,6,7,8-hexahidropirrolo[1,2-a]piracin-2-il]-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona;

25

7-[(8aR)-8a-metil-1,3,4,6,7,8-hexahidropirrolo[1,2-a]piracin-2-il]-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona;

2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-7-[(3S,5R)-3,5-dimetilpiperacin-1-il]pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona;

30

2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-7-[(3S)-3-metilpiperacin-1-il]pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona;

2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-7-[(3R)-3-metilpiperacin-1-il]pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona;

35

7-(1,4-diacepán-1-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona;

2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-7-[(3S)-3-metilpiperacin-1-il]pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona;

2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-7-[(3R)-3-metilpiperacin-1-il]pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona;

40

7-(1,4-diacepán-1-il)-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona;

7-[(3R,5S)-3,5-dimetilpiperacin-1-il]-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona;

45

7-[(8aS)-3,4,6,7,8,8a-hexahidro-1H-pirrolo[1,2-a]piracin-2-il]-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona;

7-[(8aS)-8a-metil-1,3,4,6,7,8-hexahidropirrolo[1,2-a]piracin-2-il]-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona;

50

7-[(8aR)-8a-metil-1,3,4,6,7,8-hexahidropirrolo[1,2-a]piracin-2-il]-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona;

2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-7-[(3R)-3-pirrolidin-1-il]pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona;

55

- 7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona;
 7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona;
 5 2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-7-[(3R)-3-pirrolidin-1-ilpirrolidin-1-il]pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona;
 2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-7-(3,3-dimetilpiperacin-1-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona;
 10 7-(3,3-dimetilpiperacin-1-il)-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona;
 2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-9-metil-7-[(3S)-3-metilpiperacin-1-il]pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona;
 2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-9-metil-7-[(3R)-3-metilpiperacin-1-il]pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona;
 15 2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-7-[(3R,5S)-3,5-dimetilpiperacin-1-il]-9-metil-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona;
 2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-7-(3,3-dimetilpiperacin-1-il)-9-metil-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona;
 20 7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-9-metil-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona;
 2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-7-[(3S,5S)-3,5-dimetilpiperacin-1-il]pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona;
 2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-7-[(3S)-3-pirrolidin-1-ilpirrolidin-1-il]pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona;
 25 2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-7-[(3S)-3-pirrolidin-1-ilpirrolidin-1-il]pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona;
 7-[(3S,5S)-3,5-dimetilpiperacin-1-il]-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona;
 9-metil-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-7-[(3S)-3-metilpiperacin-1-il]pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona;
 30 9-metil-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-7-[(3R)-3-metilpiperacin-1-il]pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona;
 7-[(3R,5S)-3,5-dimetilpiperacin-1-il]-9-metil-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona;
 35 7-(3,3-dimetilpiperacin-1-il)-9-metil-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona;
 7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-9-metil-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona;
 7-[(3S,5S)-3,5-dimetilpiperacin-1-il]-9-metil-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona;
 40 7-[(3R)-3-etilpiperacin-1-il]-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona;
 y sales farmacéuticamente aceptables del mismo.
- 45 En una divulgación particular, el compuesto de fórmula (I) se selecciona del grupo que consiste en:
- 7-[(8aR)-3,4,6,7,8,8a-hexahidro-1H-pirrol[1,2-a]piracin-2-il]-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona;
 50 7-[(8aS)-3,4,6,7,8,8a-hexahidro-1H-pirrol[1,2-a]piracin-2-il]-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona;
 7-[(8aR)-3,4,6,7,8,8a-hexahidro-1H-pirrol[1,2-a]piracin-2-il]-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona;
 55 2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-7-[(3S,5R)-3,5-dimetilpiperacin-1-il]pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona;
 7-[(3R,5S)-3,5-dimetilpiperacin-1-il]-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona;
 60 7-[(8aS)-3,4,6,7,8,8a-hexahidro-1H-pirrol[1,2-a]piracin-2-il]-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona;
 7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona;
 65 7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona;

2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-9-metil-7-[(3S)-3-metilpiperacin-1-il]pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona;
 7-(4,7-díazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-9-metil-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona;
 5 7-[(3R,5S)-3,5-dimetilpiperacin-1-il]-9-metil-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona;
 7-(4,7-díazaespiro[2.5]octan-7-il)-9-metil-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona;
 y sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

10 Un compuesto particular de fórmula (I) de la presente divulgación es 7-[(8aR)-3,4,6,7,8,8a-hexahidro-1H-pirrolo[1,2-a]piracin-2-il]-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona o sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

15 Un modo de realización particular de la presente divulgación se refiere a una composición farmacéutica que comprende 7-[(8aR)-3,4,6,7,8,8a-hexahidro-1H-pirrolo[1,2-a]piracin-2-il]-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

20 Un compuesto particular de fórmula (I) de la presente invención es 7-(4,7-díazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona o sales farmacéuticamente aceptables de la misma.

25 Un modo de realización particular de la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende 7-(4,7-díazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

Procedimientos de fabricación

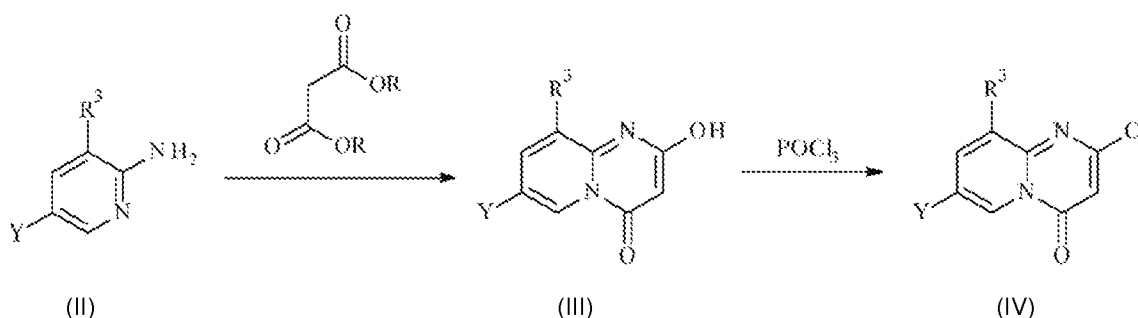
30 Los compuestos de fórmula (I) y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos como se define anteriormente se pueden preparar siguiendo procedimientos estándar conocidos en la técnica.

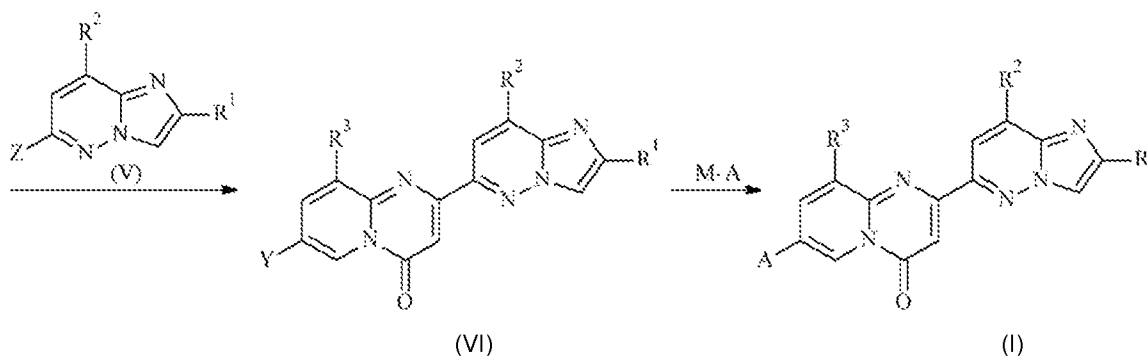
35 Como se ilustra en el esquema 1, la amino-piridina disponible comercialmente de fórmula (II) se puede hacer reaccionar con un éster malónico para dar el intermedio de fórmula (III), en la que Y y R³ son como se describe en el presente documento y R es alquilo C₁₋₂, en particular, metilo. El compuesto de fórmula (III) se trata a continuación con un reactivo de cloración (tal como POCl₃ y similares) para proporcionar un compuesto de fórmula (IV). El compuesto de fórmula (IV) se hace reaccionar a continuación en una reacción de acoplamiento cruzado de Suzuki con un compuesto de fórmula (V), en la que R¹ y R² son como se describe en el presente documento y Z es B(OH)₂ o un éster de ácido alquil C₁₋₇-borónico tal como 4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-ilo, en presencia de un catalizador (tal como dicloruro de (1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno)paladio(II) (Pd(dppf)Cl₂) y similares) y una base (tal como K₂CO₃ y similares) en un disolvente adecuado (tal como DMF y similares), para dar el compuesto de fórmula (VI). Finalmente, el compuesto de fórmula (VI) se hace reaccionar con un compuesto M-A en:

45 a) una reacción de sustitución nucleófila aromática (en particular si Y es fluoro) calentando a una temperatura de 80 °C a 200 °C; o bien

b) una reacción de aminación de Buchwald-Hartwig en presencia de un catalizador de paladio (por ejemplo, tetraquis(trifenilfosfina)paladio (Pd(PPh₃)₄) o bis(dibencilidenacetona)paladio (Pd(dba)₂) calentando a una temperatura de 20 °C a 100 °C;

50 en un disolvente (por ejemplo, dimetilsulfóxido (DMSO), N-metilpirrolidona (NMP) o dimetilformamida (DMF)) para dar un compuesto de fórmula (I), en la que A es como se define en el presente documento, M es hidrógeno, sodio o potasio, en particular, hidrógeno, y en la que M se enlaza a A por medio de un átomo de nitrógeno de A.





Esquema 1.

5

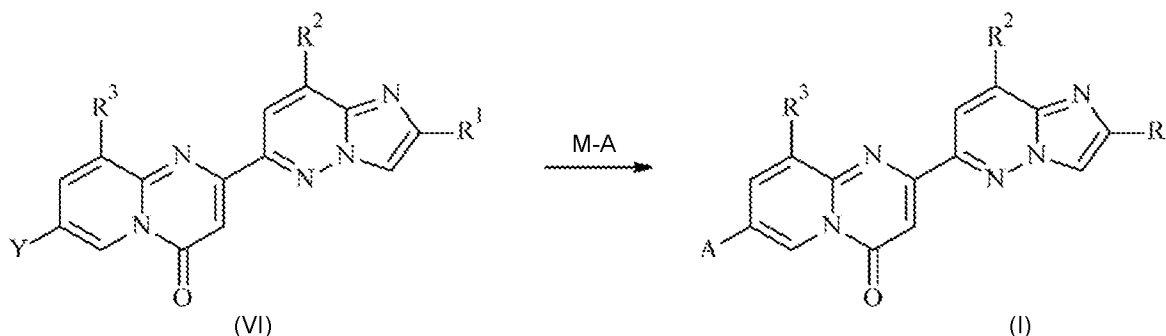
En el presente documento se divulga un procedimiento para la fabricación de compuestos de fórmula (I) y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos como se define anteriormente, que comprende la reacción de un compuesto de fórmula (VI) con un compuesto M-A en:

10 a) una reacción de sustitución nucleófila aromática (en particular si Y es fluoro) calentando a una temperatura de 80 °C a 200 °C; o bien

15 b) una reacción de aminación de Buchwald-Hartwig en presencia de un catalizador de paladio (por ejemplo, tetraquis(trifenilfosfina)paladio (Pd(PPh₃)₄) o bis(dibencilidenacetona)paladio (Pd(dba)₂) calentando a una temperatura de 20 °C a 100 °C;

20 en un disolvente (por ejemplo, dimetilsulfóxido (DMSO), N-metilpirrolidona (NMP) o dimetilformamida (DMF)), en la que A, Y, R¹, R² y R³ son como se define en el presente documento, M es hidrógeno, sodio o potasio, en particular, hidrógeno, y en la que M se enlaza a A por medio de un átomo de nitrógeno de A.

20



25 Una divulgación particular se refiere a un procedimiento para la preparación de compuestos de fórmula (I) y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos como se define anteriormente, que comprende una reacción de sustitución nucleófila aromática entre un compuesto de fórmula (VI) como se describe anteriormente con un compuesto de fórmula M-A calentando en un disolvente, en la que A, R¹, R², R³ e Y son como se define anteriormente, M es hidrógeno, sodio o potasio, y en la que M se enlaza a A por medio de un átomo de nitrógeno de A.

30

Una divulgación particular se refiere a un procedimiento para la preparación de compuestos de fórmula (I) y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos como se define anteriormente, en el que la reacción de sustitución nucleófila aromática se realiza a una temperatura de 80 °C a 200 °C.

35 Una divulgación particular se refiere a un procedimiento para la preparación de compuestos de fórmula (I) y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos como se define anteriormente, en el que el disolvente de la reacción de sustitución nucleófila aromática se selecciona de dimetilsulfóxido (DMSO), N-metilpirrolidona (NMP) y dimetilformamida (DMF).

40 Una divulgación particular se refiere a un procedimiento para la preparación de compuestos de fórmula (I) y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos como se define anteriormente, en la que M es hidrógeno.

En particular, los compuestos de fórmula (I) y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos se pueden preparar de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos en el presente documento.

45

Usos médicos

5 Como se describe anteriormente, los compuestos de fórmula (I) y sus sales farmacéuticamente aceptables poseen propiedades farmacológicas valiosas y se ha descubierto que potencian la inclusión del exón 7 de SMN1 y/o SMN2 en el ARNm transcrito del gen SMN1 y/o SMN2, incrementando de este modo la expresión de proteína SMN en un sujeto humano que necesita los mismos.

10 Los compuestos de la presente divulgación se pueden usar solos o bien en combinación con otros fármacos, para el tratamiento, prevención, retraso de la progresión y/o mejora de enfermedades provocadas por una mutación inactivadora o delección en el gen SMN1 y/o asociadas con la pérdida o anomalía de la función del gen SMN1. Estas enfermedades incluyen, pero no se limitan a atrofia muscular espinal (AME).

15 Una divulgación particular se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como se define anteriormente y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables para el tratamiento, prevención, retraso de la progresión y/o mejora de enfermedades provocadas por una mutación inactivadora o delección en el gen SMN1 y/o asociadas con la pérdida o anomalía de la función del gen SMN1, en particular para el tratamiento, prevención, retraso de la progresión y/o mejora de la AME.

20 Una divulgación particular se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como se define anteriormente para su uso como sustancias terapéuticamente activas, especialmente para su uso como sustancias terapéuticamente activas para el tratamiento, prevención, retraso de la progresión y/o mejora de enfermedades provocadas por una mutación inactivadora o delección en el gen SMN1 y/o asociadas con la pérdida o anomalía de la función del gen SMN 1, en particular para el tratamiento, prevención, retraso de la progresión y/o mejora de la atrofia muscular espinal (AME).

25 Una divulgación particular se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como se define anteriormente para el uso en el tratamiento, prevención, retraso de la progresión y/o mejora de enfermedades provocadas por una mutación inactivadora o delección en el gen SMN1 y/o asociadas con la pérdida o anomalía de la función del gen SMN1, en particular para su uso en el tratamiento, prevención, retraso de la progresión y/o mejora de la atrofia muscular espinal (AME).

30 Una divulgación particular se refiere a un procedimiento para el tratamiento, prevención, retraso de la progresión y/o mejora de enfermedades provocadas por una mutación inactivadora o delección en el gen SMN1 y/o asociadas con la pérdida o anomalía de la función del gen SMN1, en particular para el tratamiento, prevención, retraso de la progresión y/o mejora de la atrofia muscular espinal (AME), procedimiento que comprende administrar una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como se define anteriormente a un sujeto.

35 Una divulgación particular se refiere al uso de una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como se define anteriormente para el tratamiento, prevención, retraso de la progresión y/o mejora de enfermedades provocadas por una mutación inactivadora o delección en el gen SMN1 y/o asociadas con la pérdida o anomalía del gen SMN1, en particular para el tratamiento, prevención, retraso de la progresión y/o mejora de la atrofia muscular espinal (AME).

40 Una divulgación particular se refiere al uso de una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como se define anteriormente para la preparación de medicamentos para el tratamiento, prevención, retraso de la progresión y/o mejora de enfermedades provocadas por una mutación inactivadora o delección en el gen SMN1 y/o asociadas con la pérdida o anomalía de la función del gen SMN1, en particular para el tratamiento, prevención, retraso de la progresión y/o mejora de la atrofia muscular espinal (AME). Dichos medicamentos comprenden compuestos de fórmula (I) o sus sales farmacéuticamente aceptables como se define anteriormente.

Combinaciones

55 Los citoprotectores (tales como olesoxime) y los moduladores de empalme del gen SMN2 (tales como los compuestos de fórmula (I)) son enfoques complementarios para tratar la atrofia muscular espinal (AME). Existen pruebas favorables que sugieren que la administración conjunta de citoprotectores y moduladores de empalme del gen SMN2 como tratamiento combinado proporcionará un beneficio adicional a todos los tipos de pacientes con AME. El alcance del beneficio añadido se puede cuantificar a través de estudios de tratamiento combinado en modelos de ratón con AME.

60 Un modulador de empalme del gen SMN2 particular es un compuesto de fórmula (I) como se describe en el presente documento o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

65 Un citoprotector particular de la invención es olesoxime.

Los niveles sistémicamente bajos de proteína SMN provocan AME. Las motoneuronas α de la médula espinal se consideran en particular vulnerables en este trastorno genético y su disfunción y pérdida provocan debilidad muscular progresiva, parálisis y, finalmente, muerte prematura de los individuos afectados. Por lo tanto, históricamente la AME se consideraba una enfermedad autónoma de la motoneurona. Sin embargo, la disminución de SMN en las motoneuronas de ratones normales provocó solo un fenotipo muy leve (Park *et al.*, *J Neurosci.* 8 de septiembre de 2010; 30(36):12005-19). Por el contrario, la restauración de SMN en las motoneuronas en un modelo de ratón con AME tuvo sólo efectos moderados sobre el fenotipo de AME y la supervivencia (Hua *et al.*, *Nature.* 5 de octubre de 2011; 478(7367):123-6). Conjuntamente, estos resultados sugieren que tipos de células adicionales contribuyen a la patogénesis de la AME, y entender los requisitos no autónomos es crucial para desarrollar tratamientos eficaces.

Las investigaciones actuales señalan a la AME como un trastorno multicelular, multitisular y multisistémico. Existen varios estudios *in vitro* e *in vivo*, así como estudios de casos de seres humanos que muestran que una variedad de tejidos se ven afectados en la AME, tales como: nervios aferentes, músculos, vasculatura, cerebro, corazón y páncreas (Hamilton y Gillingwater, *et al.*, *Trends Mol Med.* Enero 2013; 19(1):40-50. Por ejemplo, existe un conjunto de trabajos que muestran lesiones intrínsecas musculares en la AME, lo que indica que SMN desempeña un papel en el desarrollo y la regeneración muscular (Boyer *et al.*, *Front Physiol.* 18 de diciembre de 2013; 4:356. Hayhurst M *et al.*, *Dev Biol.* 15 de agosto de 2012; 368(2):323-34; Briccino *et al.*, *Hum Mol Genet.* 15 de septiembre de 2014; 23(18):4745-57. Shafey *et al.*, *Exp Cell Res.* 15 de noviembre de 2005; 311(1):49-61. Cifuentes-Díaz *et al.*, *J Cell Biol.* 5 de marzo de 2001; 152(5):1107-14. Martínez *et al.*, *J Neurosci.* 20 de junio de 2012; 32(25):8703-15. Esto resalta la importancia de los tratamientos dirigidos a los músculos para los pacientes con AME. Muchas estrategias terapéuticas se dirigen a restaurar la proteína SMN. Los tratamientos potenciales con oligonucleótidos antisentido y genoterapia se dirigen a incrementar SMN únicamente en el tejido del SNC. Dirigir eficazmente el tratamiento a otras células y tejidos clave afectados sigue siendo un desafío.

Tanto el citoprotector olesoxime como los moduladores de empalme del gen SMN2 de fórmula (I) se pueden administrar por vía oral y se distribuyen por vía sistémica. Además, tienen mecanismos de acción complementarios. Olesoxime es citoprotector conservando la membrana mitocondrial y evitando la disfunción mitocondrial, un elemento importante de la fisiopatología de la enfermedad en la AME. Las mitocondrias son en particular abundantes en las células demandantes de energía, tales como las motoneuronas y los miocitos, ambos identificados como tejidos de tratamiento diana en la AME. Los moduladores de empalme del gen SMN2 de fórmula (I) se dirigen a incrementar la proteína SMN por vía sistémica.

Los moduladores de empalme del gen SMN2 de fórmula (I) corrigen la proteína SMN a nivel de ARN corrigiendo a través de ello el empalme incorrecto del pre-ARNm de SMN. El incremento máximo de la proteína SMN en las motoneuronas y los fibroblastos de la AME por encima de las células no tratadas dio como resultado un incremento similar en ambos tipos de células (60-80 %). Además, tanto en los modelos graves como leves de AME, los ratones tratados con moduladores de empalme del gen SMN2 de fórmula (I) tuvieron un incremento en la proteína SMN alcanzando aproximadamente un 43 % (cerebro) y un 55 % (músculo) de los niveles de proteína en ratones heterocigotos. El incremento en la proteína fue suficiente para proporcionar un beneficio sustancial, restaurando la conectividad en las uniones neuromusculares (NMJ) y en la supervivencia en los ratones graves tratados con compuestos de fórmula (I). Dado que el incremento en la proteína no se corrige en un 100 % de los ratones heterocigotos o los ratones naturales, es razonable creer que puede haber mejoras adicionales con tratamientos conjuntos, especialmente los tratamientos que se dirigen a otros mecanismos de patogenia de la enfermedad.

Los estudios de unión *in vitro* y los ensayos de agresión oxidativa indican que el citoprotector olesoxime conserva la membrana mitocondrial en una enfermedad donde existen pruebas de disfunción mitocondrial (AME), evitando, de este modo, la muerte celular. Los experimentos de formación de imágenes con fluorescencia *in vitro* mostraron que el olesoxime se acumula a nivel de la membrana de las mitocondrias en las neuronas. Además, en ratones SOD1 tratados con olesoxime (modelo de ELA familiar grave), las uniones neuromusculares (NMJ) se conservaron cuando se trataron tempranamente. Por tanto, olesoxime podría proporcionar un beneficio adicional y complementario a través de mecanismos mitocondriales y citoprotectores.

El beneficio adicional del tratamiento combinado del citoprotector olesoxime y los moduladores de empalme del gen SMN2 de fórmula (I) se está confirmando en un modelo de ratón leve de AME. El modelo leve se generó tratando el modelo de ratón con AME delta7 grave con una dosis baja de un modulador de empalme de SMN. En el estudio, el citoprotector olesoxime y los moduladores de empalme del gen SMN2 de fórmula (I) se someten a prueba solos y en combinación. El impacto del tratamiento en las NMJ de ratón es el criterio de valoración principal de estos estudios, dada la importancia de este fenotipo. También se evalúan los marcadores de agresión oxidativa en los tejidos musculares.

Un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se puede combinar con olesoxime en una única composición farmacéutica (por ejemplo, una combinación de dosis fija) o un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y olesoxime se pueden coadministrar secuencialmente uno después del otro.

5 Como se describe en el presente documento, la coadministración de un compuesto de fórmula (I) y olesoxime puede tener efectos beneficiosos y sinérgicos para el tratamiento, prevención, retraso de la progresión y/o mejora de enfermedades provocadas por una mutación inactivadora o delección en el gen SMN1 y /o asociadas con la pérdida o anomalía de la función del gen SMN1 y, adicionalmente, para la protección de células implicadas en la fisiopatología de la enfermedad, en particular para el tratamiento, prevención, retraso de la progresión y/o mejora de la atrofia muscular espinal (AME).

10 En el contexto de la presente divulgación, el término "coadministración" de dos IFA puede ser simultánea, casi simultánea o retrasarse en el tiempo unos días o semanas, por ejemplo, hasta 4 o 5 semanas.

15 Los compuestos de la presente divulgación se pueden usar en combinación con citoprotectores tales como olesoxime para el tratamiento, prevención, retraso de la progresión y/o mejora de enfermedades provocadas por una mutación inactivadora o delección en el gen SMN1 y/o asociadas con la pérdida o anomalía de la función del gen SMN1 y, adicionalmente, para la protección de células implicadas en la fisiopatología de la enfermedad. Estas enfermedades incluyen, pero no se limitan a atrofia muscular espinal (AME).

20 En un aspecto particular, la presente divulgación mostrará una sinergia de una combinación de un compuesto de fórmula (I) con olesoxime solo o bien en combinación de los mismos en el tratamiento, prevención, retraso de la progresión y/o mejora de enfermedades provocadas por una mutación inactivadora o delección en el gen SMN1 y/o asociadas con la pérdida o anomalía de la función del gen SMN1 y, adicionalmente, para la protección de células implicadas en la fisiopatología de la enfermedad, en particular para el tratamiento, prevención, retraso de la progresión y/o mejora de la atrofia muscular espinal (AME).

25 Una divulgación particular se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y olesoxime y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables para su uso en el tratamiento, prevención, retraso de la progresión y/o mejora de enfermedades provocadas por una mutación inactivadora o delección en el gen SMN1 y/o asociadas con la pérdida o anomalía de la función del gen SMN1 y, adicionalmente, para la protección de células implicadas en la fisiopatología de la enfermedad, en particular para el tratamiento, prevención, retraso de la progresión y/o mejora de la AME.

35 Una divulgación particular se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y olesoxime para su uso como sustancias terapéuticamente activas, especialmente para su uso como sustancias terapéuticamente activas para el tratamiento, prevención, retraso de la progresión y/o mejora de enfermedades provocadas por una mutación inactivadora o delección en el gen SMN1 y/o asociadas con la pérdida o anomalía de la función del gen SMN1 y, adicionalmente, para la protección de células implicadas en la fisiopatología de la enfermedad, en particular para el tratamiento, prevención, retraso de la progresión y/o mejora de la atrofia muscular espinal (AME).

40 Una divulgación particular se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y olesoxime para su uso en el tratamiento, prevención, retraso de la progresión y/o mejora de enfermedades provocadas por una mutación inactivadora o delección en el gen SMN1 y/o asociadas con la pérdida o anomalía de la función del gen SMN1 y, adicionalmente, para la protección de células implicadas en la fisiopatología de la enfermedad, en particular para su uso en el tratamiento, prevención, retraso de la progresión y/o mejora de la atrofia muscular espinal (AME).

50 Una divulgación particular se refiere a un procedimiento para el tratamiento, prevención, retraso de la progresión y/o mejora de enfermedades provocadas por una mutación inactivadora o delección en el gen SMN1 y/o asociadas con la pérdida o anomalía de la función del gen SMN1 y, adicionalmente, para la protección de células implicadas en la fisiopatología de la enfermedad, en particular para el tratamiento, prevención, retraso de la progresión y/o mejora de la atrofia muscular espinal (AME), procedimiento que comprende administrar una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y olesoxime a un sujeto.

55 Una divulgación particular se refiere al uso de una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y olesoxime para el tratamiento, prevención, retraso de la progresión y/o mejora de enfermedades provocadas por una mutación inactivadora o delección en el gen SMN1 y/o asociadas con la pérdida o anomalía de la función del gen SMN1 y, adicionalmente, para la protección de células implicadas en la fisiopatología de la enfermedad, en particular para el tratamiento, prevención, retraso de la progresión y/o mejora de la atrofia muscular espinal (AME).

65 Una divulgación particular se refiere al uso de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y olesoxime para la preparación de medicamentos para el tratamiento, prevención, retraso de la progresión y/o mejora de enfermedades provocadas por una mutación inactivadora o delección en el gen SMN1 y/o asociadas con la pérdida o anomalía de la función del gen SMN1 y, adicionalmente, para la protección de células implicadas en la fisiopatología de la enfermedad, en particular para el tratamiento, prevención, retraso de la

progresión y/o mejora de la atrofia muscular espinal (AME). Dichos medicamentos comprenden compuestos de fórmula (I) o sus sales farmacéuticamente aceptables y olesoxime.

5 Por lo tanto, la presente divulgación también engloba un kit para la preparación de composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y olesoxime.

10 En un aspecto, la divulgación proporciona un kit que comprende (a) una primera composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de (i) un compuesto de fórmula (I) y (ii) un vehículo farmacéuticamente aceptable, (b) una segunda composición farmacéutica que comprende (i) olesoxime y (ii) un vehículo farmacéuticamente aceptable, (c) la ficha técnica y (d) un recipiente, en el que la ficha técnica incluye consejos para un paciente con respecto a la coadministración de los dos IFA.

15 En otra divulgación se proporciona un kit que comprende una composición que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) y olesoxime, la ficha técnica también conocida como "prospecto del envase", un envase alveolado o frasco (HDPE o vidrio) y un recipiente.

20 El término "kit", como se usa en el presente documento, se refiere a un conjunto de los componentes mencionados anteriormente que se pueden proporcionar por separado o dentro de un único recipiente. El recipiente comprende, opcionalmente, instrucciones para llevar a cabo el procedimiento de la presente divulgación.

Una divulgación proporciona una combinación de un modulador de empalme del gen SMN2 y un citoprotector.

25 Una divulgación proporciona una combinación de un modulador de empalme del gen SMN2 y un citoprotector, para su uso en el tratamiento, prevención, retraso de la progresión y/o mejora de enfermedades provocadas por una mutación inactivadora o delección en el gen SMN1 y/o asociadas con la pérdida o anomalía de la función del gen SMN1, y/o para la protección de células implicadas en la fisiopatología de la enfermedad.

30 Una divulgación proporciona una combinación de un compuesto de fórmula (I) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y olesoxime, para su uso en el tratamiento, prevención, retraso de la progresión y/o mejora de enfermedades provocadas por una mutación inactivadora o delección en el gen SMN1 y/o asociadas con la pérdida o anomalía de la función del gen SMN1, y/o para la protección de células implicadas en la fisiopatología de la enfermedad.

35 Una divulgación proporciona un procedimiento para el tratamiento, prevención, retraso de la progresión y/o mejora de enfermedades provocadas por una mutación inactivadora o delección en el gen SMN1 y/o asociadas con la pérdida o anomalía de la función del gen SMN1, y/o para la protección de células implicadas en la fisiopatología de la enfermedad, procedimiento que comprende administrar una combinación de un modulador de empalme del gen SMN2 y un citoprotector a un sujeto.

40 Una divulgación proporciona un procedimiento para el tratamiento, prevención, retraso de la progresión y/o mejora de enfermedades provocadas por una mutación inactivadora o delección en el gen SMN1 y/o asociadas con la pérdida o anomalía de la función del gen SMN1, y/o para la protección de células implicadas en la fisiopatología de la enfermedad, procedimiento que comprende administrar una combinación de un compuesto de fórmula (I) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y olesoxime a un sujeto.

50 Una divulgación proporciona el uso de una combinación de un modulador de empalme del gen SMN2 y un citoprotector para el tratamiento, prevención, retraso de la progresión y/o mejora de enfermedades provocadas por una mutación inactivadora o delección en el gen SMN1 y/o asociadas con la pérdida o anomalía de la función del gen SMN1, y/o para la protección de células implicadas en la fisiopatología de la enfermedad.

55 Una divulgación proporciona el uso de una combinación de un compuesto de fórmula (I) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y olesoxime para el tratamiento, prevención, retraso de la progresión y/o mejora de enfermedades provocadas por una mutación inactivadora o delección en el gen SMN1 y/o asociadas con la pérdida o anomalía de la función del gen SMN1, y/o para la protección de células implicadas en la fisiopatología de la enfermedad.

60 Una divulgación proporciona el uso de una combinación de un modulador de empalme del gen SMN2 y un citoprotector para la preparación de medicamentos para el tratamiento, prevención, retraso de la progresión y/o mejora de enfermedades provocadas por una mutación inactivadora o delección en el gen SMN1 y/o asociadas con la pérdida o anomalía de la función del gen SMN1, y/o para la protección de células implicadas en la fisiopatología de la enfermedad.

65 Una divulgación proporciona el uso de una combinación de un compuesto de fórmula (I) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y olesoxime para la preparación de medicamentos para el tratamiento, prevención, retraso de la progresión y/o mejora de enfermedades provocadas

por una mutación inactivadora o delección en el gen SMN1 y/o asociadas con la pérdida o anomalía de la función del gen SMN1, y/o para la protección de células implicadas en la fisiopatología de la enfermedad.

Composiciones farmacéuticas

5 Se ha descubierto que los compuestos de fórmula (I) tienen una alta solubilidad acuosa. Debido a las dificultades para tragar de todos los grupos de edad de pacientes con AME, se ha descubierto que es preferente la administración de una solución.

10 Los compuestos de fórmula (I) se pueden formular como una solución acuosa oral disolviendo la sustancia farmacéutica en un sistema tampón a pH de menos de pH 4, en particular, menos de pH 3,8, más en particular, menos de pH 3,6, lo más en particular, pH 3,4, para proporcionar una concentración de fármaco suficientemente alta, por ejemplo, sistema tampón cítrico, sistema tampón malato, sistema tampón maleato o sistema tampón tartrato, lo más en particular, sistema tampón tartrato.

15 La estabilidad a largo plazo de las formulaciones de los compuestos de fórmula (I) se puede lograr preparando un polvo seco o granulación para la constitución de una solución oral. Se puede incorporar un sistema tampón en una formulación seca por la selección de un ácido orgánico y sales del mismo como polvos finos, por ejemplo, citrato de sodio tribásico y ácido cítrico, malato disódico y ácido málico, tartrato de sodio y potasio y ácido tartárico, o tartrato disódico y ácido tartárico, en particular, tartrato de sodio y potasio y ácido tartárico. De forma alternativa, el ácido orgánico (en particular, ácido tartárico) se puede emplear solo como acidulante en lugar de la combinación de ácido y la sal correspondiente.

20 Los polvos o gránulos que comprenden un compuesto de fórmula (I) pueden comprender un diluyente, tal como sorbitol, isomalt o en particular, manitol, y combinaciones de los mismos, que garanticen una rápida disolución de la mezcla en polvo durante la constitución de la solución oral. Al introducir un relleno, la mezcla en polvo se puede granular por compactación en seco para mejorar la fluidez y para garantizar una buena uniformidad.

25 Los ingredientes para la constitución de un sistema de disolvente para los compuestos de fórmula (I) se pueden formular como formulación separada. El disolvente constituido se puede usar para la disolución de los compuestos de fórmula (I) en un frasco al comienzo del período de uso de la solución oral.

30 Una divulgación particular se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en forma de polvo para la constitución de una solución oral.

35 En una divulgación particular, la composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se llena en un frasco multidosis con adaptador para el uso de distribuidores orales. Se ha descubierto que dicho frasco multidosis con adaptador para el uso de distribuidores orales posibilita una alta flexibilidad de dosificación, por ejemplo, dosificación ajustada al peso corporal y proporciona una administración de dosis segura y práctica.

40 En una divulgación particular, la composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se prepara a través de granulación en seco por compactación con rodillo seguido del llenado del frasco. Se ha descubierto que dicho procesamiento es beneficioso (en particular para rellenos solubles en agua) para evitar que se separe la mezcla.

45 Un modo de realización particular de la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que la composición es una solución acuosa oral o un polvo seco adecuado para la constitución de una solución acuosa oral.

50 Un modo de realización particular de la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que la composición es una solución acuosa oral que no incluye aerosoles ni un polvo seco adecuado para la constitución de una solución acuosa oral.

55 En una divulgación particular, la composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo no es un aerosol.

60 En una divulgación particular, la composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo no comprende un tónico, por ejemplo, una sal tal como cloruro de sodio.

65 Una divulgación particular se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que la composición es una solución acuosa oral o un polvo seco adecuado para la constitución de una solución acuosa oral, y en la que la solución acuosa oral tiene un pH de menos de pH 4, en particular, menos de pH 3,8, más en particular, menos de pH 3,6, lo más en particular, pH 3,4.

- 5 Un modo de realización particular de la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende 7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma y un sistema tampón citrato, malato, maleato o tartrato, en particular, un sistema tampón malato o tartrato, lo más en particular, un sistema tampón tartrato; o, de forma alternativa, el ácido correspondiente de un sistema tampón solo como acidulante, en particular, ácido tartárico; en la que la composición es una solución acuosa oral o un polvo seco adecuado para la constitución de una solución acuosa oral.
- 10 Un modo de realización particular de la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende 7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, en la que la composición es una solución acuosa oral.
- 15 Un modo de realización particular de la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende 7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma en la que la composición es una solución acuosa oral en un sistema tampón a pH de menos de pH 4, en particular, menos de pH 3,8, más en particular, menos de pH 3,6, lo más en particular, pH 3,4.
- 20 Un modo de realización particular de la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende 7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2a]pirimidin-4-ona o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, en la que la composición es una solución acuosa oral en un sistema tampón citrato, malato, maleato o tartrato, en particular, en un sistema tampón malato o tartrato, lo más en particular, en un sistema tampón tartrato; o, de forma alternativa, el ácido correspondiente de un sistema tampón solo como acidulante, en particular, ácido tartárico.
- 25 Un modo de realización particular de la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende 7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, en la que la composición es un polvo seco adecuado para la constitución de una solución acuosa oral.
- 30 Una divulgación particular se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que la composición es un polvo seco que comprende un sistema tampón adecuado para la constitución de una solución acuosa oral a pH de menos de pH 4, en particular, menos de pH 3,8, más en particular, menos de pH 3,6, lo más en particular, pH 3,4.
- 35 Un modo de realización particular de la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende 7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, en la que la composición es un polvo seco que comprende un sistema tampón citrato, malato, maleato o tartrato, en particular, en un sistema tampón malato o tartrato, lo más en particular, en un sistema tampón tartrato; o, de forma alternativa, el ácido correspondiente de un sistema tampón solo como acidulante, en particular, ácido tartárico; adecuado para la constitución de una solución acuosa oral.
- 40 En un modo de realización de la invención, la composición farmacéutica que comprende 7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma comprende además, opcionalmente, un relleno extragranular, tal como lactosa, almidón, almidón hidrolizado, maltodextrina, celulosa microcristalina, manitol, sorbitol, sacarosa, dextrosa, fosfato de calcio dibásico, sulfato de calcio o combinaciones de los mismos.
- 45 En un modo de realización particular de la invención, el relleno extragranular es sorbitol, isomalt, manitol o combinaciones de los mismos, en particular, manitol, más en particular, manitol cristalino, lo más en particular, manitol cristalino con un diámetro medio de 160 µm (Pearlitol® 160C).
- 50 Al introducir un diluyente, la mezcla en polvo se puede granular por compactación en seco para mejorar la fluidez y para garantizar una buena uniformidad.
- 55 En un modo de realización de la invención, la composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo comprende además, opcionalmente, un diluyente, tal como lactosa, almidón, almidón hidrolizado, maltodextrina, celulosa microcristalina, manitol, isomalt (E 953, (2ξ)-6-O-α-D-glucopiranosil-D-arabino-hexitol), sorbitol, sacarosa, dextrosa, fosfato de calcio dibásico, sulfato de calcio o combinaciones de los mismos.
- 60 En un modo de realización de la invención, la composición farmacéutica que comprende 7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma comprende además, opcionalmente, un diluyente, tal como lactosa, almidón, almidón hidrolizado, celulosa microcristalina, manitol, sorbitol, sacarosa, dextrosa, fosfato de calcio
- 65

dibásico, sulfato de calcio o combinaciones de los mismos.

En un modo de realización particular de la invención, el diluyente es manitol, en particular D-manitol adecuado para compresión directa tal como Parteck® M100.

En un modo de realización particular de la invención, el diluyente es una mezcla de manitol e isomalt, en particular D-manitol y (2ξ)-6-O-α-D-glucopiranosil-D-arabino-hexitol).

Se ha descubierto por los autores de la invención de la presente invención que isomalt como segundo diluyente mejora las propiedades de los gránulos.

La solución oral constituida de los compuestos de fórmula (I) en un tampón puede proporcionar tiempos de uso de más de dos semanas por el uso de conservantes, estabilizadores y antioxidantes, tales como vitamina A, vitamina C, vitamina E, vitamina E TPGS, palmitato de retinilo, selenio, cisteína, metionina, ácido cítrico, citrato de sodio, metilparabeno, propilparabeno, edetato disódico, butilhidroxiltolul, riboflavina, ácido ascórbico o combinaciones de los mismos.

La solución oral constituida de los compuestos de fórmula (I) en un tampón puede proporcionar tiempos de uso de más de dos semanas por el uso de conservantes, estabilizadores y antioxidantes, tales como vitamina E TPGS, edetato disódico, butilhidroxiltolul, riboflavina, ácido ascórbico o combinaciones de los mismos.

En una divulgación, la composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo comprende además, opcionalmente, un conservante, antioxidante y/o estabilizador, tal como vitamina E TPGS (succinato de D-alfa-tocoferilpolietilenglicol 1000), etilendiamintetraacetato disódico (edetato disódico, Na₂ EDTA), butilhidroxiltolul, riboflavina, ácido ascórbico o combinaciones de los mismos. Se ha descubierto que un conservante, antioxidante y/o estabilizador puede ser beneficioso para un tiempo de uso prolongado en recipientes multidosis o para mejorar la estabilidad del fármaco en solución durante el período de uso.

En un modo de realización particular de la invención, el conservante es ácido sórbico o benzoato de sodio (E211), en particular, benzoato de sodio.

Para formulaciones pediátricas, la cantidad de conservante incluida debe ser la más baja posible. Se ha descubierto que las composiciones de la invención con concentraciones de conservantes tan bajas como un 1 % en peso proporcionan soluciones estables.

En un modo de realización particular de la invención, el antioxidante es ácido ascórbico ((5R)-[(1S)-1,2-dihidroxietyl]-3,4-dihidroxifuran-2(5H)-ona).

En un modo de realización particular de la invención, el estabilizador es etilendiamintetraacetato disódico (edetato disódico, Na₂ EDTA).

En un modo de realización de la invención, la composición farmacéutica que comprende 7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma comprende, opcionalmente, además un lubricante. Se ha descubierto que se puede usar un lubricante como coadyuvante tecnológico para la compactación con rodillo. Además, se puede usar un lubricante para ingredientes solubles en agua tales como PEG para garantizar la aceptabilidad del aspecto.

En un modo de realización particular de la invención, el lubricante es poli(etilenglicol), en particular, poli(etilenglicol) con un peso molecular promedio en número Mn 6.000 (PEG 6000).

En una divulgación, la composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo comprende, opcionalmente, además un edulcorante y/o sabor para mejorar la palatabilidad.

En una divulgación particular, el sabor es sabor a fresa o sabor a vainilla.

En una divulgación particular, el edulcorante es sucralosa (1,6-dicloro-1,6-didesoxi-β-D-fructofuranosil-4-cloro-4-desoxi-α-D-galactopiranosido, E955) o sacarina de sodio.

En la invención, el compuesto de fórmula (I) es 7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona.

En una divulgación particular, la composición farmacéutica comprende:

- un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y
- un sistema tampón seleccionado de citrato, malato, maleato o tartrato, en particular, malato o tartrato, lo más en particular, tartrato; o, de forma alternativa, el ácido correspondiente de un sistema tampón solo como acidulante, en particular, ácido tartárico.

En una divulgación particular, la composición farmacéutica comprende:

- un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;
- un sistema tampón, en particular, un sistema tampón seleccionado de citrato, malato, maleato o tartrato, más en particular, malato o tartrato, lo más en particular, tartrato; o, de forma alternativa, el ácido correspondiente de un sistema tampón solo como acidulante, en particular, ácido tartárico; y

- un diluyente, en particular, manitol o una mezcla de manitol e isomalt, más en particular, manitol.

En una divulgación particular, la composición farmacéutica comprende:

- un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y
- un diluyente, en particular, manitol o una mezcla de manitol e isomalt, más en particular, manitol.

En una divulgación particular, la composición farmacéutica comprende:

- un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;
- un sistema tampón, en particular, un sistema tampón seleccionado de citrato, malato, maleato o tartrato, más en particular, malato o tartrato, lo más en particular, tartrato; o, de forma alternativa, el ácido correspondiente de un sistema tampón solo como acidulante, en particular, ácido tartárico;
- un antioxidante, en particular, ácido ascórbico; y
- un estabilizador, en particular, edetato disódico.

En una divulgación particular, la composición farmacéutica comprende:

- un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;
- un sistema tampón, en particular, un sistema tampón seleccionado de citrato, malato, maleato o tartrato, más en particular, malato o tartrato, lo más en particular, tartrato; o, de forma alternativa, el ácido correspondiente de un sistema tampón solo como acidulante, en particular, ácido tartárico;
- un diluyente, en particular manitol o una mezcla de manitol e isomalt, en particular, manitol;
- un antioxidante, en particular, ácido ascórbico; y
- un estabilizador, en particular, edetato disódico.

En una divulgación particular, la composición farmacéutica comprende:

- un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;
- un sistema tampón, en particular, un sistema tampón seleccionado de citrato, malato, maleato o tartrato, más en particular, malato o tartrato, lo más en particular, tartrato; o, de forma alternativa, el ácido correspondiente de un sistema tampón solo como acidulante, en particular, ácido tartárico;
- un diluyente, en particular manitol o una mezcla de manitol e isomalt, en particular, manitol;
- un antioxidante, en particular, ácido ascórbico;
- un estabilizador, en particular, edetato disódico; y
- un lubricante, en particular, PEG6000.

En una divulgación particular, la composición farmacéutica comprende:

- un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;
- 5 • un sistema tampón, en particular, un sistema tampón seleccionado de citrato, malato, maleato o tartrato, más en particular, malato o tartrato, lo más en particular, tartrato; o, de forma alternativa, el ácido correspondiente de un sistema tampón solo como acidulante, en particular, ácido tartárico;
- un diluyente, en particular manitol o una mezcla de manitol e isomalt, en particular, manitol;
- 10 • un antioxidante, en particular, ácido ascórbico;
- un estabilizador, en particular, edetato disódico;
- un lubricante, en particular, PEG6000; y
- 15 • un conservante, en particular, ácido sórbico o benzoato de sodio, lo más en particular, benzoato de sodio.

En una divulgación particular, la composición farmacéutica comprende:

- 20 • un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;
- un sistema tampón, en particular, un sistema tampón seleccionado de citrato, malato, maleato o tartrato, más en particular, malato o tartrato, lo más en particular, tartrato; o, de forma alternativa, el ácido correspondiente de un sistema tampón solo como acidulante, en particular, ácido tartárico;
- 25 • un diluyente, en particular manitol o una mezcla de manitol e isomalt, en particular, manitol;
- un antioxidante, en particular, ácido ascórbico;
- 30 • un estabilizador, en particular, edetato disódico;
- un lubricante, en particular, PEG6000;
- un conservante, en particular, ácido sórbico o benzoato de sodio, lo más en particular, benzoato de sodio,
- 35 • opcionalmente, un edulcorante, en particular, sucralosa o sacarina de sodio, lo más en particular, sucralosa; y
- opcionalmente, un sabor, en particular, sabor a fresa o sabor a vainilla.

40 En una divulgación particular, la composición farmacéutica comprende:

- de un 1 a un 10 % en peso de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;
- 45 • de un 5 a un 15 % en peso de un sistema tampón, en particular, un sistema tampón seleccionado de citrato, malato, maleato o tartrato, más en particular, malato o tartrato, lo más en particular, tartrato; o, de forma alternativa, el ácido correspondiente de un sistema tampón solo como acidulante, en particular, ácido tartárico;
- de un 40 a un 70 % en peso de un diluyente, en particular, manitol o una mezcla de manitol e isomalt, más en particular, manitol;
- 50 • de un 1 a un 4 % en peso de un antioxidante, en particular, ácido ascórbico;
- de un 0,5 a un 2 % en peso de un estabilizador, en particular, edetato disódico;
- 55 • de un 0,5 a un 2 % en peso de un lubricante, en particular, PEG6000;
- de un 1 a un 8 % en peso de un conservante, en particular, ácido sórbico o benzoato de sodio, lo más en particular, benzoato de sodio,
- 60 • de un 0 a un 3 % en peso de un edulcorante, en particular, sucralosa o sacarina de sodio, lo más en particular, sucralosa; y
- de un 0 a un 20 % en peso de un sabor, en particular, sabor a fresa o sabor a vainilla;

en la que la cantidad total de ingredientes no excede un 100 % en peso.

En una divulgación particular, la composición farmacéutica comprende:

- 5 • de un 2 a un 6 % en peso de 7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma;
- 10 • de un 9 a un 13 % en peso de un sistema tampón tartrato;
- de un 45 a un 55 % en peso de un manitol como primer diluyente y de un 8 a un 10 % en peso de isomalt como segundo diluyente;
- 15 • de un 1 a un 3 % en peso de ácido ascórbico como antioxidante;
- de un 0,5 a un 2 % en peso de edetato disódico como estabilizador;
- de un 0,5 a un 2 % en peso de PEG6000 como lubricante;
- 20 • de un 1 a un 7 % en peso de benzoato de sodio como conservante,
- de un 1,5 a un 2 % en peso de sucralosa como edulcorante; y
- 25 • de un 13 a un 17 % en peso de sabor a fresa;

en la que la cantidad total de ingredientes no excede un 100 % en peso.

Otra divulgación se refiere a un kit para la preparación de composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que el kit comprende:

- 30 • una mezcla en polvo que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y
- 35 • agua como disolvente para la constitución.

Otra divulgación se refiere a un kit para la preparación de composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que el kit comprende:

- 40 • un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,
- una mezcla en polvo como vehículo para la constitución, y
- opcionalmente, agua como disolvente para la constitución.

45 Otra divulgación se refiere a una combinación en polvo como vehículo adecuado para la constitución de un compuesto de fórmula (I) como se describe en el presente documento o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que comprende:

- 50 • un sistema tampón, en particular, un sistema tampón seleccionado de citrato, malato, maleato o tartrato, más en particular, malato o tartrato, lo más en particular, tartrato; o, de forma alternativa, el ácido correspondiente de un sistema tampón solo como acidulante, en particular, ácido tartárico; y
- un diluyente, en particular, manitol o una mezcla de manitol e isomalt, más en particular, manitol.

55 Otra divulgación se refiere a una combinación en polvo como vehículo adecuado para la constitución de un compuesto de fórmula (I) como se describe en el presente documento o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que comprende:

- 60 • un sistema tampón, en particular, un sistema tampón seleccionado de citrato, malato, maleato o tartrato, más en particular, malato o tartrato, lo más en particular, tartrato; o, de forma alternativa, el ácido correspondiente de un sistema tampón solo como acidulante, en particular, ácido tartárico;
- un diluyente, en particular manitol o una mezcla de manitol e isomalt, en particular, manitol;
- 65 • un antioxidante, en particular, ácido ascórbico;

ES 2 988 532 T3

- un estabilizador, en particular, edetato disódico;
- un lubricante, en particular, PEG6000; y
- un conservante, en particular, ácido sórbico o benzoato de sodio, lo más en particular, benzoato de sodio.

Otra divulgación se refiere a una combinación en polvo como vehículo adecuado para la constitución de un compuesto de fórmula (I) como se describe en el presente documento o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que comprende:

- un sistema tampón, en particular, un sistema tampón seleccionado de citrato, malato, maleato o tartrato, más en particular, malato o tartrato, lo más en particular, tartrato; o, de forma alternativa, el ácido correspondiente de un sistema tampón solo como acidulante, en particular, ácido tartárico;

- un diluyente, en particular manitol o una mezcla de manitol e isomalt, en particular, manitol;
- un antioxidante, en particular, ácido ascórbico;

- un estabilizador, en particular, edetato disódico;
- un lubricante, en particular, PEG6000;

- un conservante, en particular, ácido sórbico o benzoato de sodio, lo más en particular, benzoato de sodio,
- opcionalmente, un edulcorante, en particular, sucralosa o sacarina de sodio, lo más en particular, sucralosa; y
- opcionalmente, un sabor, en particular, sabor a fresa o sabor a vainilla.

Otra divulgación se refiere a una combinación en polvo como vehículo adecuado para la constitución de un compuesto de fórmula (I) como se describe en el presente documento o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que comprende:

- de un 4 a un 15 % en peso de un sistema tampón, en particular, un sistema tampón seleccionado de citrato, malato, maleato o tartrato, más en particular, malato o tartrato, lo más en particular, tartrato; o, de forma alternativa, el ácido correspondiente de un sistema tampón solo como acidulante, en particular, ácido tartárico;

- de un 40 a un 70 % en peso de un diluyente, en particular, manitol o una mezcla de manitol e isomalt, más en particular, manitol;

- de un 1 a un 4 % en peso de un antioxidante, en particular, ácido ascórbico;
- de un 0,2 a un 2 % en peso de un estabilizador, en particular, edetato disódico;

- de un 0,5 a un 2 % en peso de un lubricante, en particular, PEG6000;

- de un 1 a un 8 % en peso de un conservante, en particular, ácido sórbico o benzoato de sodio, lo más en particular, benzoato de sodio,

- de un 0 a un 3 % en peso de un edulcorante, en particular, sucralosa o sacarina de sodio, lo más en particular, sucralosa; y

- de un 0 a un 20 % en peso de un sabor, en particular, sabor a fresa o sabor a vainilla; en la que la cantidad total de ingredientes no excede un 100 % en peso.

Otra divulgación se refiere a una combinación en polvo como vehículo adecuado para la constitución de un compuesto de fórmula (I) como se describe en el presente documento o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que comprende:

- de un 9 a un 13 % en peso de un sistema tampón tartrato o ácido tartárico;

- de un 45 a un 55 % en peso de un manitol como primer diluyente y de un 8 a un 10 % en peso de isomalt como segundo diluyente;

- de un 1 a un 3 % en peso de ácido ascórbico como antioxidante;

- de un 0,3 a un 0,9 % en peso de edetato disódico como estabilizador;
- de un 0,5 a un 2 % en peso de PEG6000 como lubricante;
- de un 3 a un 7 % en peso de benzoato de sodio como conservante,
- de un 0,8 a un 2,0 % en peso de sucralosa como edulcorante; y
- de un 7,5 a un 19 % en peso de sabor a fresa;

en la que la cantidad total de ingredientes no excede un 100 % en peso.

Una divulgación particular se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como se describe en el presente documento y además olesoxime.

En una divulgación particular, olesoxime tiene una distribución de tamaño de partícula con un valor d90 más pequeño que 200 µm, en particular, un valor d90 más pequeño que 100 µm, más en particular, un valor d90 de 50-100 µm.

El término "valor d90" indica el diámetro donde un 90 % en peso de las partículas del conjunto tienen un diámetro esférico equivalente más pequeño que el valor.

Una divulgación particular se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como se describe en el presente documento, olesoxime y un aceite seleccionado de aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de soja, aceite de algodón, aceite de ricino, aceite de nuez, aceite de colza, aceite de maíz, aceite de almendras, aceite de girasol y combinaciones de los mismos.

Una divulgación particular se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como se describe en el presente documento; olesoxime; un aceite seleccionado de aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de soja, aceite de algodón, aceite de ricino, aceite de nuez, aceite de colza, aceite de maíz, aceite de almendras, aceite de girasol y combinaciones de los mismos; un emulsionante y/o agentes solubilizantes lipófilos seleccionados de monooleato de glicerilo (Peceol™, Inwitor 948™, Capmul GMO™), monolinoleato de glicerilo (Maisine 35-1™), monooleato de sorbitán (Span 80™), ácido oleico y combinaciones de los mismos; y, opcionalmente, un tensioactivo polar, en particular, un tensioactivo con un valor HLB de menos de 7, más en particular, polisorbato 80 (Tween 80™), polioxilglicéridos de caprilcaproilo (Labrasol™) y combinaciones de los mismos.

En una divulgación particular, la composición farmacéutica comprende:

- un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;
- un sistema tampón seleccionado de citrato, malato, maleato o tartrato, en particular, malato o tartrato, lo más en particular, tartrato; o, de forma alternativa, el ácido correspondiente de un sistema tampón solo como acidulante, en particular, ácido tartárico;
- olesoxime;
- un aceite, en particular, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de soja, aceite de algodón, aceite de ricino, aceite de nuez, aceite de colza, aceite de maíz, aceite de almendras, aceite de girasol o combinaciones de los mismos, lo más en particular, aceite de sésamo;
- un emulsionante y/o agentes solubilizantes lipófilos, en particular, monooleato de glicerilo (Peceol™, Inwitor 948™, Capmul GMO™), monolinoleato de glicerilo (Maisine 35-1™), monooleato de sorbitán (Span 80™), ácido oleico o combinaciones de los mismos; y
- opcionalmente, un tensioactivo polar, en particular, un tensioactivo con un valor HLB de menos de 7, más en particular, polisorbato 80 (Tween 80™), polioxilglicéridos de caprilcaproilo (Labrasol™) o combinaciones de los mismos.

En una divulgación particular, la composición farmacéutica comprende:

- un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

- un sistema tampón, en particular, un sistema tampón seleccionado de citrato, malato, maleato o tartrato, más en particular, malato o tartrato, lo más en particular, tartrato; o, de forma alternativa, el ácido correspondiente de un sistema tampón solo como acidulante, en particular, ácido tartárico;
- 5
- un diluyente, en particular manitol o una mezcla de manitol e isomalt, en particular, manitol;
 - olesoxime;
- 10
- un aceite, en particular, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de soja, aceite de algodón, aceite de ricino, aceite de nuez, aceite de colza, aceite de maíz, aceite de almendras, aceite de girasol o combinaciones de los mismos, lo más en particular, aceite de sésamo;
- 15
- un emulsionante y/o agentes solubilizantes lipófilos, en particular, monooleato de glicerilo (Peceol™, Inwitor 948™, Capmul GMO™), monolinoleato de glicerilo (Maisine 35-1™), monooleato de sorbitán (Span 80™), ácido oleico o combinaciones de los mismos; y
- 20
- opcionalmente, un tensioactivo polar, en particular, un tensioactivo con un valor HLB de menos de 7, más en particular, polisorbato 80 (Tween 80™), polioxilglicéridos de caprilcaproilo (Labrasol™) o combinaciones de los mismos.
- En una divulgación particular, la composición farmacéutica comprende:
- 25
- un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;
- 30
- un diluyente, en particular manitol o una mezcla de manitol e isomalt, en particular, manitol;
 - olesoxime;
- 35
- un aceite, en particular, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de soja, aceite de algodón, aceite de ricino, aceite de nuez, aceite de colza, aceite de maíz, aceite de almendras, aceite de girasol o combinaciones de los mismos, lo más en particular, aceite de sésamo;
- 40
- un emulsionante y/o agentes solubilizantes lipófilos, en particular, monooleato de glicerilo (Peceol™, Inwitor 948™, Capmul GMO™), monolinoleato de glicerilo (Maisine 35-1™), monooleato de sorbitán (Span 80™), ácido oleico o combinaciones de los mismos; y
- 45
- opcionalmente, un tensioactivo polar, en particular, un tensioactivo con un valor HLB de menos de 7, más en particular, polisorbato 80 (Tween 80™), polioxilglicéridos de caprilcaproilo (Labrasol™) o combinaciones de los mismos.
- En una divulgación particular, la composición farmacéutica comprende:
- 50
- un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;
- 55
- un sistema tampón, en particular, un sistema tampón seleccionado de citrato, malato, maleato o tartrato, más en particular, malato o tartrato, lo más en particular, tartrato; o, de forma alternativa, el ácido correspondiente de un sistema tampón solo como acidulante, en particular, ácido tartárico;
 - un antioxidante, en particular, ácido ascórbico;
 - un estabilizador, en particular, edetato disódico;
 - olesoxime,
- 60
- un aceite, en particular, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de soja, aceite de algodón, aceite de ricino, aceite de nuez, aceite de colza, aceite de maíz, aceite de almendras, aceite de girasol o combinaciones de los mismos, lo más en particular, aceite de sésamo;
- 65
- un emulsionante y/o agentes solubilizantes lipófilos, en particular, monooleato de glicerilo (Peceol™, Inwitor 948™, Capmul GMO™), monolinoleato de glicerilo (Maisine 35-1™), monooleato de sorbitán (Span 80™), ácido oleico o combinaciones de los mismos; y
 - opcionalmente, un tensioactivo polar, en particular, un tensioactivo con un valor HLB de menos de 7, más en particular, polisorbato 80 (Tween 80™), polioxilglicéridos de caprilcaproilo (Labrasol™) o combinaciones de los mismos.

En una divulgación particular, la composición farmacéutica comprende:

- 5 • un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;
- un sistema tampón, en particular, un sistema tampón seleccionado de citrato, malato, maleato o tartrato, más en particular, malato o tartrato, lo más en particular, tartrato; o, de forma alternativa, el ácido correspondiente de un sistema tampón solo como acidulante, en particular, ácido tartárico;
- 10 • un diluyente, en particular manitol o una mezcla de manitol e isomalt, en particular, manitol;
- un antioxidante, en particular, ácido ascórbico;
- 15 • un estabilizador, en particular, edetato disódico;
- olesoxime;
- un aceite, en particular, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de soja, aceite de algodón, aceite de ricino, aceite de nuez, aceite de colza, aceite de maíz, aceite de almendras, aceite de girasol o combinaciones de los mismos, lo más en particular, aceite de sésamo;
- 20 • un emulsionante y/o agentes solubilizantes lipófilos, en particular, monooleato de glicerilo (Peceol™, Inwitor 948™, Capmul GMO™), monolinoleato de glicerilo (Maisine 35-1™), monooleato de sorbitán (Span 80™), ácido oleico o combinaciones de los mismos; y
- 25 • opcionalmente, un tensioactivo polar, en particular, un tensioactivo con un valor HLB de menos de 7, más en particular, polisorbato 80 (Tween 80™), polioxilglicéridos de caprilcaproilo (Labrasol™) o combinaciones de los mismos.

30 En una divulgación particular, la composición farmacéutica comprende:

- un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;
- 35 • un sistema tampón, en particular, un sistema tampón seleccionado de citrato, malato, maleato o tartrato, más en particular, malato o tartrato, lo más en particular, tartrato; o, de forma alternativa, el ácido correspondiente de un sistema tampón solo como acidulante, en particular, ácido tartárico;
- un diluyente, en particular manitol o una mezcla de manitol e isomalt, en particular, manitol;
- 40 • un antioxidante, en particular, ácido ascórbico;
- un estabilizador, en particular, edetato disódico;
- 45 • un lubricante, en particular, PEG6000;
- olesoxime;
- un aceite, en particular, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de soja, aceite de algodón, aceite de ricino, aceite de nuez, aceite de colza, aceite de maíz, aceite de almendras, aceite de girasol o combinaciones de los mismos, lo más en particular, aceite de sésamo;
- 50 • un emulsionante y/o agentes solubilizantes lipófilos, en particular, monooleato de glicerilo (Peceol™, Inwitor 948™, Capmul GMO™), monolinoleato de glicerilo (Maisine 35-1™), monooleato de sorbitán (Span 80™), ácido oleico o combinaciones de los mismos; y
- 55 • opcionalmente, un tensioactivo polar, en particular, un tensioactivo con un valor HLB de menos de 7, más en particular, polisorbato 80 (Tween 80™), polioxilglicéridos de caprilcaproilo (Labrasol™) o combinaciones de los mismos.

60 En una divulgación particular, la composición farmacéutica comprende:

- un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;
- 65 • un sistema tampón, en particular, un sistema tampón seleccionado de citrato, malato, maleato o tartrato, más en particular, malato o tartrato, lo más en particular, tartrato; o, de forma alternativa, el ácido correspondiente de un

sistema tampón solo como acidulante, en particular, ácido tartárico;

- un diluyente, en particular manitol o una mezcla de manitol e isomalt, en particular, manitol;
- 5 • un antioxidante, en particular, ácido ascórbico;
- un estabilizador, en particular, edetato disódico;
- 10 • un lubricante, en particular, PEG6000;
- un conservante, en particular, ácido sórbico o benzoato de sodio, lo más en particular, benzoato de sodio;
- olesoxime;
- 15 • un aceite, en particular, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de soja, aceite de algodón, aceite de ricino, aceite de nuez, aceite de colza, aceite de maíz, aceite de almendras, aceite de girasol o combinaciones de los mismos, lo más en particular, aceite de sésamo;
- 20 • un emulsionante y/o agentes solubilizantes lipófilos, en particular, monooleato de glicerilo (Peceol™, Inwitor 948™, Capmul GMO™), monolinoleato de glicerilo (Maisine 35-1™), monooleato de sorbitán (Span 80™), ácido oleico o combinaciones de los mismos; y
- opcionalmente, un tensioactivo polar, en particular, un tensioactivo con un valor HLB de menos de 7, más en particular, polisorbato 80 (Tween 80™), polioxilglicéridos de caprilcaproilo (Labrasol™) o combinaciones de los mismos.

En una divulgación particular, la composición farmacéutica comprende:

- 30 • un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;
- un sistema tampón, en particular, un sistema tampón seleccionado de citrato, malato, maleato o tartrato, más en particular, malato o tartrato, lo más en particular, tartrato; o, de forma alternativa, el ácido correspondiente de un sistema tampón solo como acidulante, en particular, ácido tartárico;
- 35 • un diluyente, en particular manitol o una mezcla de manitol e isomalt, en particular, manitol;
- un antioxidante, en particular, ácido ascórbico;
- 40 • un estabilizador, en particular, edetato disódico;
- un lubricante, en particular, PEG6000;
- un conservante, en particular, ácido sórbico o benzoato de sodio, lo más en particular, benzoato de sodio;
- 45 • opcionalmente, un edulcorante, en particular sucralosa o sacarina de sodio, lo más en particular, sucralosa;
- opcionalmente, un sabor, en particular, sabor a fresa o sabor a vainilla;
- olesoxime;
- 50 • un aceite, en particular, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de soja, aceite de algodón, aceite de ricino, aceite de nuez, aceite de colza, aceite de maíz, aceite de almendras, aceite de girasol o combinaciones de los mismos, lo más en particular, aceite de sésamo;
- 55 • un emulsionante y/o agentes solubilizantes lipófilos, en particular, monooleato de glicerilo (Peceol™, Inwitor 948™, Capmul GMO™), monolinoleato de glicerilo (Maisine 35-1™), monooleato de sorbitán (Span 80™), ácido oleico o combinaciones de los mismos; y
- 60 • opcionalmente, un tensioactivo polar, en particular, un tensioactivo con un valor HLB de menos de 7, más en particular, polisorbato 80 (Tween 80™), polioxilglicéridos de caprilcaproilo (Labrasol™) o combinaciones de los mismos.

Otra divulgación se refiere a un kit para la preparación de composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y olesoxime, en el que el kit comprende:

65

- una mezcla en polvo que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;
- 5 • agua como disolvente para la constitución;
- olesoxime;
- 10 • un aceite, en particular, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de soja, aceite de algodón, aceite de ricino, aceite de nuez, aceite de colza, aceite de maíz, aceite de almendras, aceite de girasol o combinaciones de los mismos, lo más en particular, aceite de sésamo;
- 15 • un emulsionante y/o agentes solubilizantes lipófilos, en particular, monooleato de glicerilo (Peceol™, Inwitor 948™, Capmul GMO™), monolinoleato de glicerilo (Maisine 35-1™), monooleato de sorbitán (Span 80™), ácido oleico o combinaciones de los mismos; y
- opcionalmente, un tensioactivo polar, en particular, un tensioactivo con un valor HLB de menos de 7, más en particular, polisorbato 80 (Tween 80™), polioxilglicéridos de caprilcaproilo (Labrasol™) o combinaciones de los mismos.
- 20 Otra divulgación se refiere a un kit para la preparación de composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y olesoxime, en el que el kit comprende:
- 25 • un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;
- una mezcla en polvo como vehículo para la constitución;
- 30 • opcionalmente, agua como disolvente para la constitución;
- olesoxime;
- 35 • un aceite, en particular, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de soja, aceite de algodón, aceite de ricino, aceite de nuez, aceite de colza, aceite de maíz, aceite de almendras, aceite de girasol o combinaciones de los mismos, lo más en particular, aceite de sésamo;
- 40 • un emulsionante y/o agentes solubilizantes lipófilos, en particular, monooleato de glicerilo (Peceol™, Inwitor 948™, Capmul GMO™), monolinoleato de glicerilo (Maisine 35-1™), monooleato de sorbitán (Span 80™), ácido oleico o combinaciones de los mismos; y
- opcionalmente, un tensioactivo polar, en particular, un tensioactivo con un valor HLB de menos de 7, más en particular, polisorbato 80 (Tween 80™), polioxilglicéridos de caprilcaproilo (Labrasol™) o combinaciones de los mismos.

45 **Figuras**

Figura 1. 7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacín-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona (ejemplo 20) incrementa la producción de proteína y ARNm de SMN *in vitro*.

50 (A) Empalme de SMN2 en fibroblastos de AME de tipo 1. (B) Proteína SMN en fibroblastos de AME de tipo 1. (C) Proteína SMN en motoneuronas de AME de tipo 1. (D) Empalme de SMN1 y SMN2 en sangre completa derivada de VS. Se cultivaron fibroblastos de pacientes con AME de tipo 1 durante 24 horas (A) o 48 horas (B); se cultivaron motoneuronas de iPSC (células madre pluripotentes inducidas) de pacientes con AME de tipo 1 durante 72 horas (C) y células de sangre completa de voluntarios sanos (VS) durante 4 horas (D) en presencia del compuesto del ejemplo 20. Se evaluó el empalme de SMN por RT-PCR y se evaluaron los niveles de proteína SMN por fluorescencia homogénea resuelta en el tiempo (HTRE) en lisados de fibroblastos y por inmunotinción para SMN en motoneuronas. Los datos representan las medias ± error estándar (EEM) de 3 evaluaciones por punto de datos y se expresan como múltiplo de cambio frente a los controles no tratados.

60 **Figura 2.** 7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacín-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona (ejemplo 20) induce la expresión de la proteína SMN *in vivo*.

65 (A) Proteína SMN en cerebros de ratones con alelo C/C. (B) Proteína SMN en cerebros de ratones con SMNΔ7. (C) Proteína SMN en el músculo cuádriceps de ratones con alelo C/C. (D) Proteína SMN en el músculo cuádriceps de ratones con SMNΔ7. Se trataron ratones con alelo C/C y ratones con SMNΔ7 con el compuesto del ejemplo 20.

Una hora después de la última dosis, se recogieron los cerebros y los músculos cuádriceps y se evaluaron los niveles de proteína SMN por HTRF. Los datos representan las medias \pm EEM de 5-6 animales por grupo y se expresan como múltiplo de cambio frente a los controles tratados con vehículo. * = $p < 0,05$, ** = $p < 0,01$, *** = $p < 0,001$ frente a controles no tratados.

5 **Figura 3.** Efectos *in vivo* del tratamiento de ratones con SMN Δ 7 con 7-(4,7-díazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacín-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona (ejemplo 20).

10 Se trataron ratones con SMN Δ 7 con el compuesto del ejemplo 20 desde P3 en adelante y se evaluaron diariamente la supervivencia de los animales (A) y el peso corporal (B) hasta P100. Los datos representan las medias \pm EEM de 10 - 12 ratones por grupo. HET = compañeros de camada heterocigotos.

15 **Figura 4.** Protección de los circuitos motores y la atrofia muscular por 7-(4,7-díazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacín-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona (ejemplo 20) en ratones con SMN Δ 7 *in vivo*.

20 Se trataron ratones con SMN Δ 7 con el compuesto del ejemplo 20 de P3 a P14, y se evaluaron la conectividad neuromuscular y la atrofia muscular por inmunohistoquímica. (A) Entradas propiosensibles positivas para vGlut1 en la médula espinal L3-5. (B) Axones motores ventrales en la médula espinal L3-5. (C) Inervación de las NMJ en el músculo dorsal largo. (D) Área de sección transversal del músculo ELD. Los datos representan las medias \pm EEM de 4 - 5 ratones por grupo. * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$ frente a ratones con SMN Δ 7 tratados con vehículo.

25 **Figura 5.** Empalme alternativo de FoxM1 *in vitro*

Se trataron fibroblastos de pacientes con AME de tipo I con el compuesto del ejemplo 20 durante 24 horas, y se analizaron los ARNm de longitud completa (FL) de FoxM1 y los que carecen del exón 9 (Δ 9) por RT-qPCR. Los datos representan las medias \pm EEM de 6 repeticiones y se expresan como múltiplo de cambio frente a los controles no tratados.

30 **Figura 6.** Emulsiones de aceite en agua

Fotografías de la composición 4A antes de (A) e inmediatamente después de la adición de un 20 % (B) o un 30 % (C) de solución tampón tartrato (composición 5A) y, de este modo, de las emulsiones de agua en aceite resultantes.

35 **Figura 7.** Estabilidad de las emulsiones de aceite en agua

Fotografías de emulsiones de agua en aceite que comprenden un 70 % de la composición 4A y un 30 % de la composición 5A 15 minutos después de la constitución (A) (10 veces agitación) y 30 min después de la constitución (B) (10 veces agitación).

40 **Figura 8.** Emulsiones de aceite en agua

Fotografías de la composición 4F antes de (A) e inmediatamente después de la adición de un 20 % (B izquierda), un 25 % (B al medio) o un 30 % (B derecha) de solución tampón tartrato (composición 5A) y, de este modo, de las emulsiones de agua en aceite resultantes.

45 **Figura 9.** Estabilidad de las emulsiones de aceite en agua

50 Fotografías de emulsiones de agua en aceite que comprenden un 70 % de la composición 4F y un 30 % de la composición 5A 15 minutos después de la constitución (A) (10 veces agitación) y 30 min después de la constitución (B) (10 veces agitación).

55 Ejemplos

La invención se entenderá más completamente por referencia a los siguientes ejemplos. El compuesto definido en el ejemplo 20 se usa en las composiciones y kits de acuerdo con la invención. Otros compuestos preparados en la parte experimental se divulgan como referencia.

60 Abreviaturas usadas

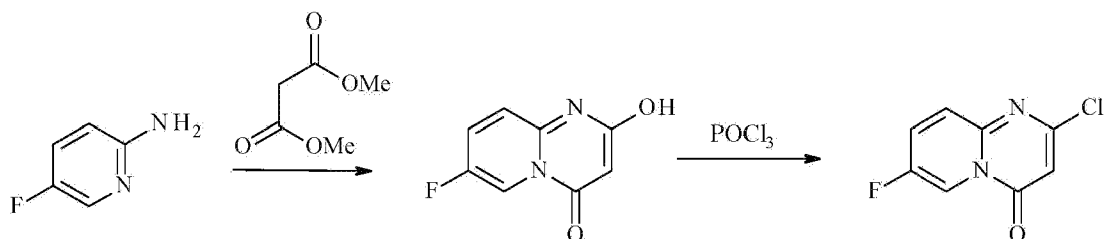
ACN: acetonitrilo; CH₂Cl₂: diclorometano (DCM); DIPEA: diisopropiletilamina;

65 DMA: dimetilacetamida; TEA: trietilamina; TA: temperatura ambiente; B₂(pin)₂: bis(pinacolato)diboro; Pd(dppf)Cl₂: (dicloruro de 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno)paladio(II); PPTS: p-toluenosulfonato de piridinio.

Intermedio 1

7-fluoro-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona

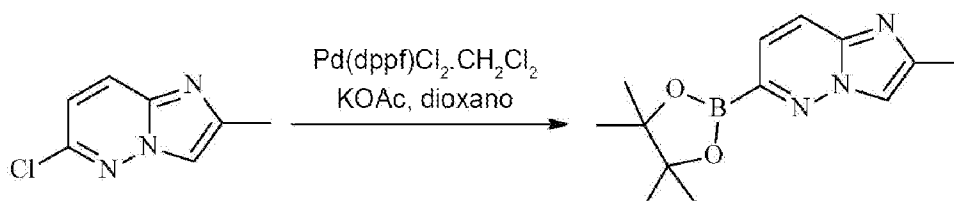
5 a) 2-cloro-7-fluoro-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona



10 Se calentó una mezcla de 2-amino-5-fluoropiridina (11,20 g, 0,10 mol) y malonato de dimetilo (57,0 ml, 0,50 mol) a 230 °C durante 1,5 h. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, se filtró el precipitado y se lavó con ACN (3x) para dar 7-fluoro-2-hidroxi-4H-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona como un sólido oscuro (14 g), que se usó directamente en la siguiente etapa. m/z de EM 181,3 $[M+H]^+$.

15 Se calentó una mezcla oscura de 7-fluoro-2-hidroxi-4H-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona bruta (14 g, ~77 mmol) en $POCl_3$ (50 ml) y DIPEA (13,3 ml, 77 mmol) a 110 °C durante 15 horas. Se retiró el disolvente y se trató el residuo oscuro con agua helada, se lavó con agua (3x) y se secó para dar un sólido marrón. Se sometió a cromatografía el sólido marrón bruto (MeOH al 5 % en CH_2Cl_2) para dar 2-cloro-7-fluoro-4H-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona como un sólido amarillo (9,84 g, 50 %, 2 etapas), m/z de EM 199,2 $[M+H]^+$.

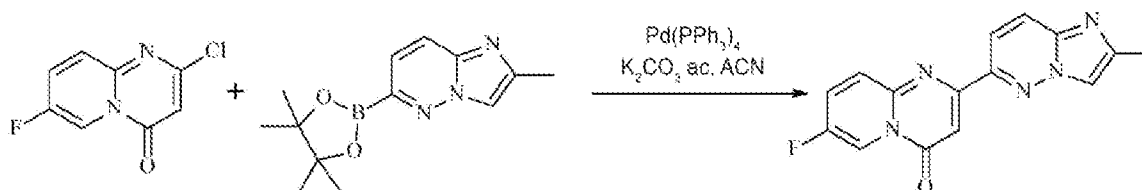
20 b) 2-metil-6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)imidazo[1,2-b]piridacina



25 Se desgasificó una mezcla de 6-cloro-2-metilimidazo[1,2-b]piridacina (900 mg, 5,37 mmol), 4,4,4',4',5,5,5',5'-octametil-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolano) (1,36 g, 5,37 mmol, 1,0 eq.), KOAc (1,05 g, 10,7 mmol) y $Pd(dppf)Cl_2 \cdot CH_2Cl_2$ (393 mg, 0,54 mmol) en dioxano (50 ml) y se calentó bajo N_2 a 95 °C. Después de 15 horas, se diluyó la mezcla con EtOAc, se filtró a través de celite y se concentró a vacío para dar 2-metil-6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)imidazo[1,2-b]piridacina que se usó directamente en la siguiente etapa.

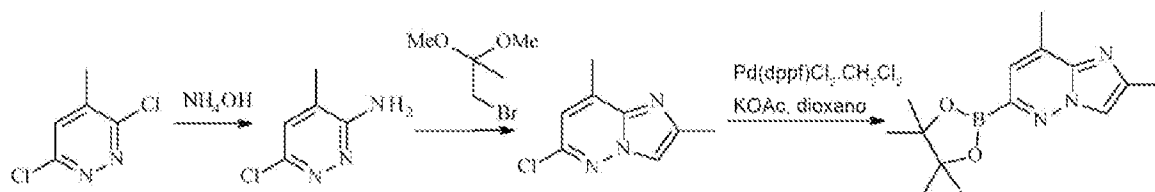
30

c) 7-fluoro-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona



35 A una solución de 2-cloro-7-fluoro-4H-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona (750 mg, 3,78 mmol) en ACN (36 ml) se le añadió 2-metil-6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)imidazo[1,2-b]piridacina (1,17 g, 4,53 mmol, eq: 1,2), $Pd(PPh_3)_4$ (218 mg, 0,189 mmol, 0,05 eq.) y una solución acuosa de K_2CO_3 (3,78 ml, 7,55 mmol, 2,0 eq.). Se desgasificó la mezcla y se calentó bajo argón a 105 °C durante la noche. Se enfrió la reacción hasta TA, y se filtró. Se lavó el precipitado con Et_2O y a continuación agua, se secó a vacío para dar 250 mg (22 %) de 7-fluoro-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona como un sólido marrón claro. m/z de EM 296,1 $[M+H]^+$.

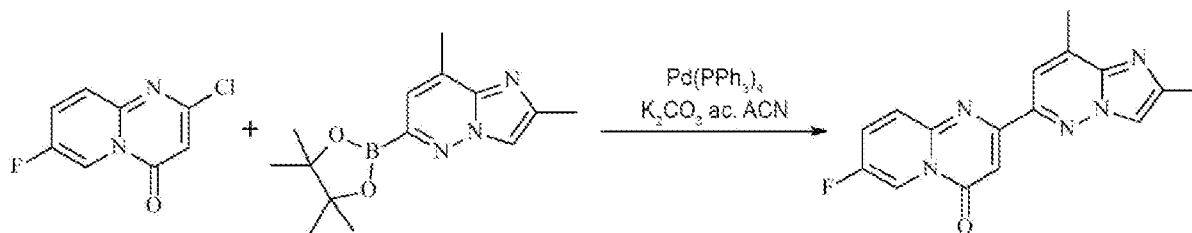
40

Intermedio 2**2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-7-fluoro-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona**5 **a) 2,8-dimetil-6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)imidazo[1,2-b]piridacina**

10 En un matraz sellado, se suspendió 3,6-dicloro-4-metilpiridacina (27 g, 161 mmol) en amoníaco acuoso (25 %, 300 ml). Se calentó la mezcla de reacción a 110 °C durante 48 horas (se convirtió en una solución después de 1 hora). Después de enfriar a temperatura ambiente, se vertió la reacción en CH₂Cl₂ y se separó la fase orgánica, se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró a vacío, para dar 22,4 g de 6-cloro-4-metil-piridacin-3-amina y 6-cloro-5-metil-piridacin-3-amina como una mezcla de regioisómeros que se usaron directamente en la siguiente etapa.

15 Se suspendió la mezcla de regioisómeros 6-cloro-4-metil-piridacin-3-amina y 6-cloro-5-metil-piridacin-3-amina (22,4 g) en 2-propanol (300 ml). Se añadieron 1-bromo-2,2-dimetoxipropano (36,0 g, 26,6 ml, 193 mmol, 1,2 eq.) y PPTS (2,96 g, 11,6 mmol, 0,0725 eq.), y se calentó la solución resultante a 105 °C durante la noche. Se retiró el disolvente a vacío y se tomó el residuo en CH₂Cl₂ y se lavó con NaHCO₃. Se secaron las fases orgánicas sobre Na₂SO₄, se concentró a vacío y se sometió a cromatografía el sólido marrón claro bruto (EtOAc / heptano 1/2 -1/1) para dar por separado 6,1 g de 6-cloro-2,8-dimetil-imidazo[1,2-b]piridacina *m/z* de EM 182,1 [M+H]⁺ (21 %) como un sólido blanco y 5,9 g de 6-cloro-2,7-dimetil-imidazo[1,2-b]piridacina *m/z* de EM 182,1 [M+H]⁺ (20 %) como un sólido blanco.

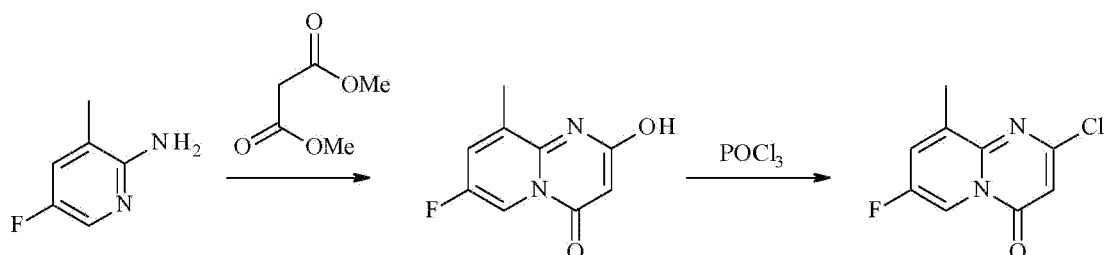
25 Se desgasificó una mezcla de 6-cloro-2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacina (0,9 g, 4,96 mmol), 4,4,4',4',5,5,5',5'-octametil-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolano) (1,26 g, 4,96 mmol, 1,0 eq.), KOAc (0,97 g, 9,91 mmol) y Pd(dppf)Cl₂·CH₂Cl₂ (363 mg, 0,49 mmol) en dioxano (50 ml) y se calentó bajo N₂ a 110 °C. Después de 15 horas, se diluyó la mezcla con EtOAc, se filtró a través de celite y se concentró a vacío para dar 2,8-dimetil-6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)imidazo[1,2-b]piridacina que se usó directamente en la siguiente etapa.

b) **2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-7-fluoro-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona**

35 A una solución de 2-cloro-7-fluoro-4H-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona (750 mg, 3,78 mmol, descrita en el presente documento anteriormente) en ACN (36 ml) se le añadió 2,8-dimetil-6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)imidazo[1,2-b]piridacina (1,24 g, 4,53 mmol, 1,2 eq.), Pd(PPh₃)₄ (218 mg, 0,189 mmol, 0,05 eq.) y una solución acuosa de K₂CO₃ (3,78 ml, 7,55 mmol, 2,0 eq.). Se desgasificó la mezcla y se calentó bajo argón a 100 °C durante 6 horas. Se enfrió la reacción hasta TA, y se filtró. Se lavó el precipitado con Et₂O y a continuación agua, se secó a vacío para dar 700 mg (60 %) de 2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-7-fluoro-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona como un sólido marrón claro. *m/z* de EM 310,1 [M+H]⁺.

45 **Intermedio 3****7-fluoro-9-metil-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona**a) **2-cloro-7-fluoro-9-metil-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona**

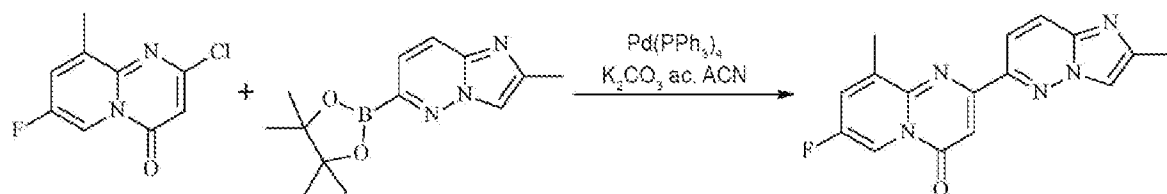
50



Se calentó una mezcla de 5-fluoro-3-metilpiridin-2-amina (3,3 g, 26,2 mmol) y malonato de dimetilo (15,0 ml, 0,13 mol, 5,0 eq.) a 210 °C durante 1,5 horas. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, se filtró el precipitado y se lavó con ACN (3x) para dar 7-fluoro-2-hidroxi-9-metil-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona como un sólido oscuro (2,3 g), que se usó directamente en la siguiente etapa. *m/z* de EM 195,1 [M+H]⁺.

Se calentó una mezcla de 7-fluoro-2-hidroxi-9-metil-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona bruta (2,3 g, 11,8 mmol) en POCl₃ (7,7 ml, 82,9 mmol) y DIEA (2,07 ml, 11,8 mmol) a 110 °C durante 15 horas. Se retiró el disolvente y se trató el residuo con agua helada, se lavó con agua (3x) y se secó para dar un sólido marrón. Se sometió a cromatografía el sólido marrón bruto (MeOH al 5 % en CH₂Cl₂) para dar 2-cloro-7-fluoro-9-metil-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona como un sólido amarillo (1,77 g, 70 % en 2 etapas), *m/z* de EM 213,1 [M+H]⁺.

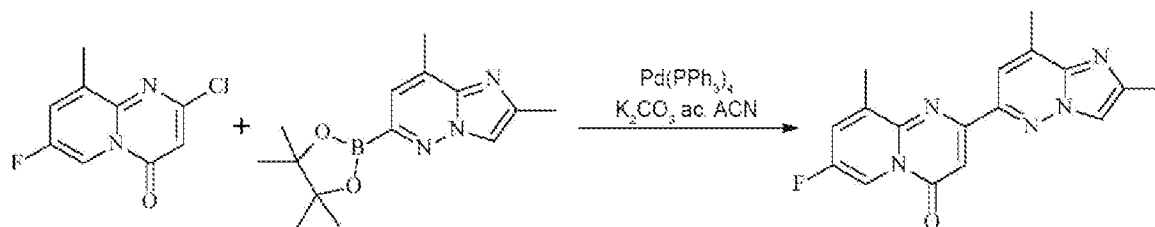
b) 7-fluoro-9-metil-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona



A una solución de 2-cloro-7-fluoro-9-metil-4H-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona (2,2 g, 10,3 mmol) en ACN (80 ml) se le añadió 2-metil-6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)imidazo[1,2-b]piridacina (3,22 g, 12,4 mmol, 1,2 eq., descrita en el presente documento anteriormente), Pd(PPh₃)₄ (1,20 g, 1,03 mmol, 0,1 eq.) y una solución acuosa de K₂CO₃ (10,3 ml, 20,7 mmol, 2,0 eq.). Se desgasificó la mezcla y se calentó bajo argón a 100 °C durante 6 horas. Se enfrió la reacción hasta TA, y se filtró. Se lavó el precipitado con Et₂O y a continuación agua, se secó a vacío para dar 1,80 g (56 %) de 7-fluoro-9-metil-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona como un sólido marrón claro. *m/z* de EM 310,1 [M+H]⁺.

Intermedio 4

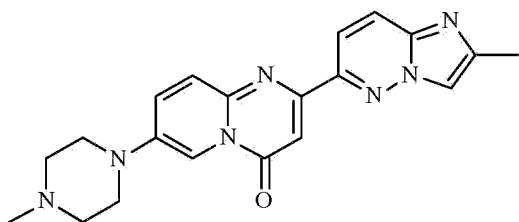
2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-7-fluoro-9-metil-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona



A una solución de 2-cloro-7-fluoro-9-metil-4H-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona (0,98 g, 4,61 mmol, descrita en el presente documento anteriormente) en ACN (50 ml) se le añadió 2,8-dimetil-6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)imidazo[1,2-b]piridacina (1,51 g, 5,53 mmol, 1,2 eq., descrita en el presente documento anteriormente), Pd(PPh₃)₄ (0,32 g, 0,277 mmol, 0,06 eq.) y una solución acuosa de K₂CO₃ (4,61 ml, 9,22 mmol, 2,0 eq.). Se desgasificó la mezcla y se calentó bajo argón a 100 °C durante 6 horas. Se enfrió la reacción hasta TA, y se filtró. Se lavó el precipitado con Et₂O y agua, a continuación se secó a vacío para dar 0,89 g (60 %) de 2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-7-fluoro-9-metil-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona como un sólido marrón claro. *m/z* de EM 324,4 [M+H]⁺.

Ejemplo 1

2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-7-(4-metilpiperacin-1-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona



5

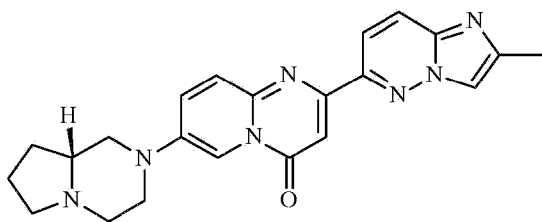
En un tubo sellado se agitaron 7-fluoro-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-4H-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona (**intermedio 1**; 35 mg, 0,119 mmol) y 1-metilpiperacina (47,5 mg, 0,474 mmol, 4 eq.) en DMSO (1 ml) a 120 °C durante la noche. CL-EM mostró conversión total. Se retiró el disolvente a alto vacío. Se purificó el producto bruto por cromatografía en columna (SiO₂, CH₂Cl₂/MeOH=de 95/5 a 9/1) para dar el producto del título (25 mg, 56 %) como un sólido amarillo claro. *m/z* de EM 376,3 [M+H⁺].

10

Ejemplo 2

7-[(8aR)-3,4,6,7,8,8a-hexahidro-1H-pirrolo[1,2-a]piracin-2-il]-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona

15



20

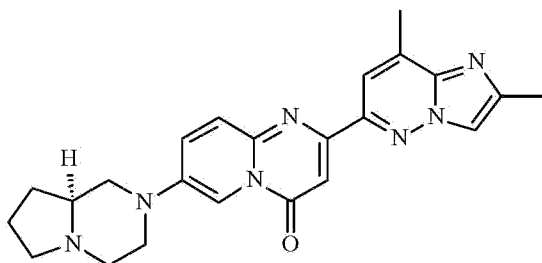
En un tubo sellado, se agitaron 7-fluoro-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-4H-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona (**intermedio 1**; 125 mg, 0,426 mmol) y (R)-octahidropirrolo-[1,2-a]piracina (160 mg, 1,27 mmol, 3 eq) en DMSO (5 ml) a 125 °C durante la noche. Se retiró el disolvente a alto vacío. Se tomó el residuo en CH₂Cl₂ y se lavó con una solución saturada acuosa de NaHCO₃. Se separó la capa orgánica y se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró a vacío. Se purificó el producto bruto por cromatografía en columna (SiO₂, CH₂Cl₂/MeOH=de 98/2 a 95/5) para dar el producto del título (65 mg, 38 %) como un sólido amarillo claro. *m/z* de EM 402,5 [M+H⁺].

25

Ejemplo 3

7-[(8aS)-3,4,6,7,8,8a-hexahidro-1H-pirrolo[1,2-a]piracin-2-il]-2-(2,8-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona

30

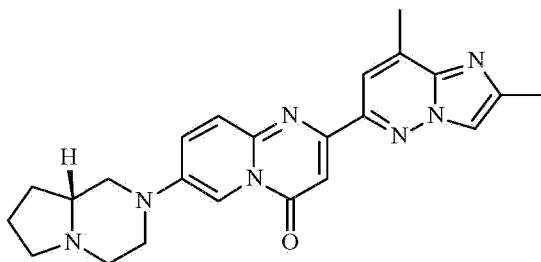


35

En un tubo sellado se agitaron 2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-7-fluoro-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona (**intermedio 2**; 200 mg, 0,647 mmol) y (S)-octahidropirrolo-[1,2-a]piracina (286 mg, 2,26 mmol, 3,5 eq.) en DMSO (5 ml) a 125 °C durante la noche. Se retiró el disolvente a alto vacío. Se tomó el residuo en CH₂Cl₂ y se lavó con una solución saturada acuosa de NaHCO₃. Se separó la capa orgánica y se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró a vacío. Se purificó el producto bruto por cromatografía en columna (SiO₂, CH₂Cl₂/MeOH=de 98/2 a 95/5) para dar el producto del título (115 mg, 43 %) como un sólido amarillo claro. *m/z* de EM 416,3 [M+H⁺].

40 Ejemplo 4

7-[(8aR)-3,4,6,7,8,8a-hexahidro-1H-pirrolo[1,2-a]piracin-2-il]-2-(2,8-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona



5

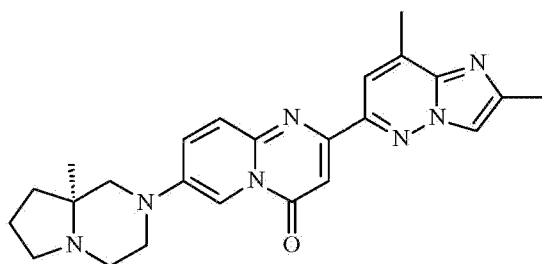
En un tubo sellado se agitaron 2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-7-fluoro-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona (**intermedio 2**; 200 mg, 0,647 mmol), DIPEA (0,113 ml, 0,67 mmol, 1 eq.) y (R)-octahidropirrolo-[1,2-a]piracina (245 mg, 1,95 mmol, 3,0 eq.) en DMSO (2,5 ml) a 125 °C durante la noche. Se retiró el disolvente a alto vacío. Se tomó el residuo en CH₂Cl₂ y se lavó con una solución saturada acuosa de NaHCO₃. Se separó la capa orgánica y se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró a vacío. Se purificó el producto bruto por cromatografía en columna (SiO₂, CH₂Cl₂/MeOH=de 98/2 a 95/5) para dar el producto del título (132 mg, 49 %) como un sólido amarillo claro. *m/z* de EM 416,3 [M+H⁺].

10

Ejemplo 5

15

7-[(8aS)-8a-metil-1,3,4,6,7,8-hexahidropirrolo[1,2-a]piracin-2-il]-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona



20

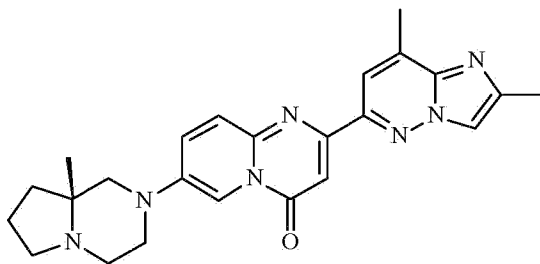
En un tubo sellado se agitaron 2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-7-fluoro-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona (**intermedio 2**; 90 mg, 0,291 mmol), DIPEA (0,05 ml, 0,29 mmol, 1 eq.) y (S)-8a-metiloctahidropirrolo[1,2-a]piracina (81 mg, 0,58 mmol, 2,0 eq.) en DMSO (2,5 ml) a 125 °C durante la noche. Se retiró el disolvente a alto vacío. Se tomó el residuo en CH₂Cl₂ y se lavó con una solución saturada acuosa de NaHCO₃. Se separó la capa orgánica y se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró a vacío. Se purificó el producto bruto por cromatografía en columna (SiO₂, CH₂Cl₂/MeOH=de 95/5 a 90/10) para dar el producto del título (55 mg, 44 %) como un sólido amarillo claro. *m/z* de EM 430,3 [M+H⁺].

25

Ejemplo 6

30

7-[(8aR)-8a-metil-1,3,4,6,7,8-hexahidropirrolo[1,2-a]piracin-2-il]-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona



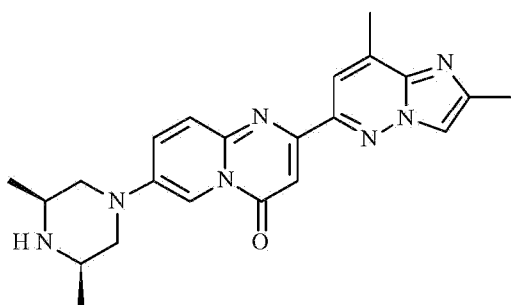
35

En un tubo sellado se agitaron 2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-7-fluoro-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona (**intermedio 2**; 90 mg, 0,291 mmol), DIPEA (0,05 ml, 0,29 mmol, 1 eq.) y

(R)-8a-metiloctahidropirrol[1,2-a]piracina (81 mg, 0,58 mmol, 2,0 eq.) en DMSO (2,5 ml) a 125 °C durante la noche. Se retiró el disolvente a alto vacío. Se tomó el residuo en CH₂Cl₂ y se lavó con una solución saturada acuosa de NaHCO₃. Se separó la capa orgánica y se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró a vacío. Se purificó el producto bruto por cromatografía en columna (SiO₂, CH₂Cl₂/MeOH=de 95/5 a 90/10) para dar el producto del título (50 mg, 40 %) como un sólido amarillo claro. *m/z* de EM 430,4 [M+H⁺].

Ejemplo 7

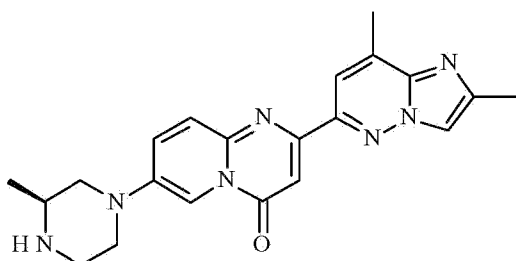
2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-7-[(3S,5R)-3,5-dimetilpiperacin-1-il]pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona



En un tubo sellado se agitaron 2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-7-fluoro-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona (**intermedio 2**; 50 mg, 0,162 mmol) y *cis*-2,6-dimetilpiperacina (74 mg, 0,647 mmol, 4,0 eq.) en DMSO (1,5 ml) a 110 °C durante la noche. Se retiró el disolvente a alto vacío. Se tomó el residuo en CH₂Cl₂ y se lavó con una solución saturada acuosa de NaHCO₃. Se separó la capa orgánica y se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró a vacío. Se purificó el producto bruto por cromatografía en columna (SiO₂, CH₂Cl₂/MeOH=de 95/5 a 90/10) para dar el producto del título (32 mg, 49 %) como un sólido amarillo claro. *m/z* de EM 404,4 [M+H⁺].

Ejemplo 8

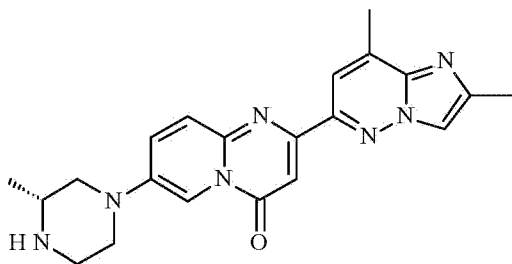
2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-7-[(3S)-3-metilpiperacin-1-il]pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona



En un tubo sellado se agitaron 2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-7-fluoro-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona (**intermedio 2**; 33 mg, 0,107 mmol) y (S)-2-metilpiperacina (43 mg, 0,427 mmol, 4,0 eq.) en DMSO (2 ml) a 120 °C durante la noche. Se retiró el disolvente a alto vacío. Se tomó el residuo en CH₂Cl₂ y se lavó con una solución saturada acuosa de NaHCO₃. Se separó la capa orgánica y se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró a vacío. Se purificó el producto bruto por cromatografía en columna (SiO₂, CH₂Cl₂/MeOH=de 95/5 a 90/10) para dar el producto del título (18 mg, 43 %) como un sólido amarillo claro. *m/z* de EM 390,3 [M+H⁺].

Ejemplo 9

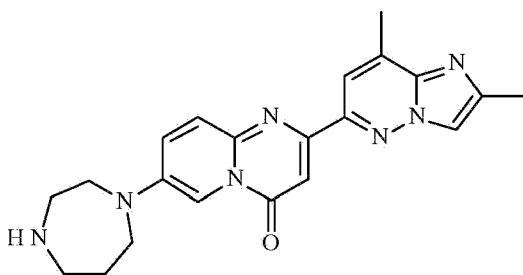
2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-7-[(3R)-3-metilpiperacin-1-il]pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona



5 En un tubo sellado se agitaron 2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-7-fluoro-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona (**intermedio 2**; 85 mg, 0,275 mmol) y (R)-2-metilpiperacina (110 mg, 1,10 mmol, 4,0 eq.) en DMSO (5 ml) a 120 °C durante la noche. Se retiró el disolvente a alto vacío. Se tomó el residuo en CH₂Cl₂ y se lavó con una solución saturada acuosa de NaHCO₃. Se separó la capa orgánica y se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró a vacío. Se purificó el producto bruto por cromatografía en columna (SiO₂, CH₂Cl₂/MeOH=de 95/5 a 90/10) para dar el producto del título (35 mg, 33 %) como un sólido amarillo claro. *m/z* de EM 390,3 [M+H⁺].

10 Ejemplo 10

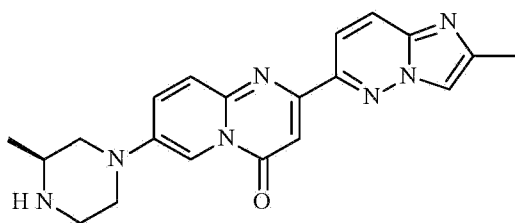
7-(1,4-diacepán-1-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona



15 En un tubo sellado se agitaron 2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-7-fluoro-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona (**intermedio 2**; 33 mg, 0,107 mmol) y 1,4-diacepáno (32 mg, 0,320 mmol, 3,0 eq.) en DMSO (2 ml) a 120 °C durante la noche. Se retiró el disolvente a alto vacío. Se tomó el residuo en CH₂Cl₂ y se lavó con una solución saturada acuosa de NaHCO₃. Se separó la capa orgánica y se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró a vacío. Se purificó el producto bruto por cromatografía en columna (SiO₂, CH₂Cl₂/MeOH=de 95/5 a 90/10) para dar el producto del título (20 mg, 48 %) como un sólido amarillo claro. *m/z* de EM 390,3 [M+H⁺].

Ejemplo 11

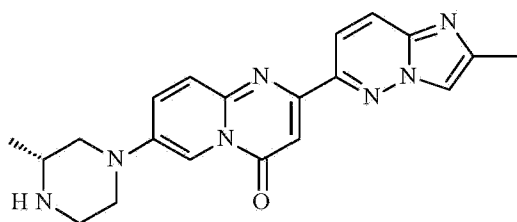
25 2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-7-[(3S)-3-metilpiperacina-1-il]pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona



30 En un tubo sellado se agitaron 7-fluoro-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-4H-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona (**intermedio 1**; 50 mg, 0,169 mmol) y (S)-2-metilpiperacina (68 mg, 0,677 mmol, 4,0 eq.) en DMSO (2 ml) a 110 °C durante la noche. Se retiró el disolvente a alto vacío. Se tomó el residuo en CH₂Cl₂ y se lavó con una solución saturada acuosa de NaHCO₃. Se separó la capa orgánica y se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró a vacío. Se purificó el producto bruto por cromatografía en columna (SiO₂, CH₂Cl₂/MeOH=de 95/5 a 90/10) para dar el producto del título (40 mg, 63 %) como un sólido amarillo claro. *m/z* de EM 376,2 [M+H⁺].

35 Ejemplo 12

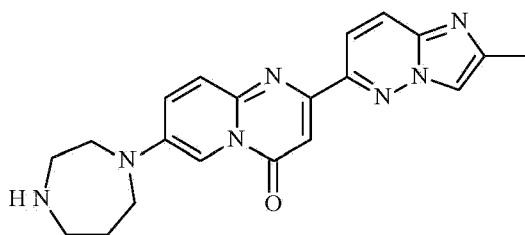
2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-7-[(3R)-3-metilpiperacina-1-il]pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona



5 En un tubo sellado se agitaron 7-fluoro-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-4H-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona (**intermedio 1**; 50 mg, 0,169 mmol) y (R)-2-metilpiperacina (68 mg, 0,677 mmol, 4,0 eq.) en DMSO (2 ml) a 110 °C durante la noche. Se retiró el disolvente a alto vacío. Se tomó el residuo en CH₂Cl₂ y se lavó con una solución saturada acuosa de NaHCO₃. Se separó la capa orgánica y se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró a vacío. Se purificó el producto bruto por cromatografía en columna (SiO₂, CH₂Cl₂/MeOH=de 95/5 a 90/10) para dar el producto del título (48 mg, 75 %) como un sólido amarillo claro. *m/z* de EM 376,3 [M+H⁺].

Ejemplo 13

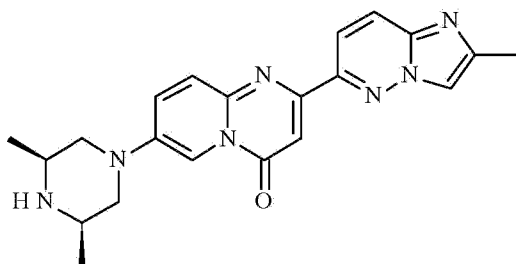
7-(1,4-diazepan-1-il)-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona



15 En un tubo sellado se agitaron 7-fluoro-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-4H-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona (**intermedio 1**; 50 mg, 0,169 mmol) y 1,4-diazepano (68 mg, 0,677 mmol, 4,0 eq.) en DMSO (2 ml) a 110 °C durante la noche. Se retiró el disolvente a alto vacío. Se tomó el residuo en CH₂Cl₂ y se lavó con una solución saturada acuosa de NaHCO₃. Se separó la capa orgánica y se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró a vacío. Se purificó el producto bruto por cromatografía en columna (SiO₂, CH₂Cl₂/MeOH=de 95/5 a 90/10) para dar el producto del título (41 mg, 65 %) como un sólido amarillo claro. *m/z* de EM 376,2 [M+H⁺].

Ejemplo 14

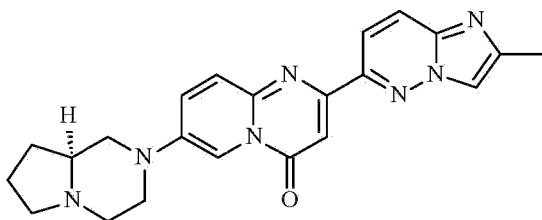
7-[(3R,5S)-3,5-dimetilpiperacina-1-il]-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona



30 En un tubo sellado se agitaron 7-fluoro-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-4H-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona (**intermedio 1**; 50 mg, 0,169 mmol) y cis-2,6-dimetilpiperacina (77 mg, 0,677 mmol, 4,0 eq.) en DMSO (2 ml) a 110 °C durante la noche. Se retiró el disolvente a alto vacío. Se tomó el residuo en CH₂Cl₂ y se lavó con una solución saturada acuosa de NaHCO₃. Se separó la capa orgánica y se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró a vacío. Se purificó el producto bruto por cromatografía en columna (SiO₂, CH₂Cl₂/MeOH=de 95/5 a 90/10) para dar el producto del título (41 mg, 62 %) como un sólido amarillo claro. *m/z* de EM 390,3 [M+H⁺].

Ejemplo 15

7-[(8aS)-3,4,6,7,8,8a-hexahidro-1H-pirrolo[1,2-a]piracin-2-il]-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona



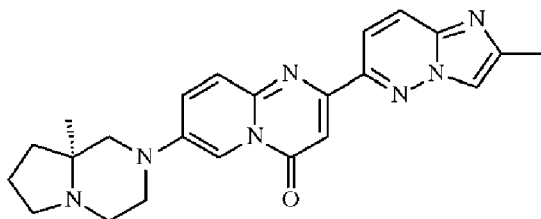
5

En un tubo sellado se agitaron 7-fluoro-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-4H-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona (**intermedio 1**; 50 mg, 0,169 mmol) y (S)-octahidropirrolo[1,2-a]piracina (85 mg, 0,677 mmol, 4,0 eq.) en DMSO (2 ml) a 125 °C durante la noche. Se retiró el disolvente a alto vacío. Se tomó el residuo en CH₂Cl₂ y se lavó con una solución saturada acuosa de NaHCO₃. Se separó la capa orgánica y se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró a vacío. Se purificó el producto bruto por cromatografía en columna (SiO₂, CH₂Cl₂/MeOH=de 95/5 a 90/10) para dar el producto del título (36 mg, 53 %) como un sólido amarillo claro. *m/z* de EM 402,3 [M+H⁺].

10

Ejemplo 16

15 7-[(8aS)-8a-metil-1,3,4,6,7,8-hexahidropirrolo[1,2-a]piracin-2-il]-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona



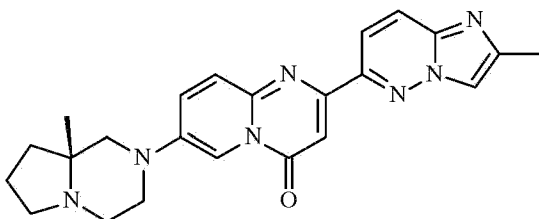
20

En un tubo sellado se agitaron 7-fluoro-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-4H-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona (**intermedio 1**; 50 mg, 0,169 mmol) y (S)-8a-metiloctahidropirrolo[1,2-a]piracina (95 mg, 0,677 mmol, 4,0 eq.) en DMSO (2 ml) a 125 °C durante la noche. Se retiró el disolvente a alto vacío. Se tomó el residuo en CH₂Cl₂ y se lavó con una solución saturada acuosa de NaHCO₃. Se separó la capa orgánica y se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró a vacío. Se purificó el producto bruto por cromatografía en columna (SiO₂, CH₂Cl₂/MeOH=de 95/5 a 90/10) para dar el producto del título (45 mg, 64 %) como un sólido amarillo claro. *m/z* de EM 416,3 [M+H⁺].

25

Ejemplo 17

30 7-[(8aR)-8a-metil-1,3,4,6,7,8-hexahidropirrolo[1,2-a]piracin-2-il]-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona



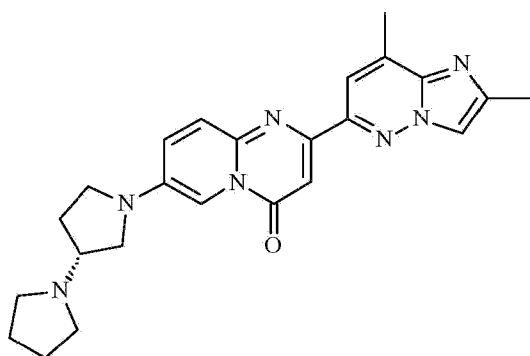
35

En un tubo sellado se agitaron 7-fluoro-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-4H-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona (**intermedio 1**; 100 mg, 0,339 mmol) y (R)-8a-metiloctahidropirrolo[1,2-a]piracina (190 mg, 1,35 mmol, 4,0 eq.) en DMSO (4 ml) a 125 °C durante la noche. Se retiró el disolvente a alto vacío. Se tomó el residuo en CH₂Cl₂ y se lavó con una solución saturada acuosa de NaHCO₃. Se separó la capa orgánica y se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró a vacío. Se purificó el producto bruto por cromatografía en columna (SiO₂, CH₂Cl₂/MeOH=de 95/5 a 90/10) para dar el producto del título (45 mg, 64 %) como un sólido amarillo claro. *m/z* de EM 416,3 [M+H⁺].

40

Ejemplo 18

2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-7-[(3R)-3-pirrolidin-1-ilpirrolidin-1-il]pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona

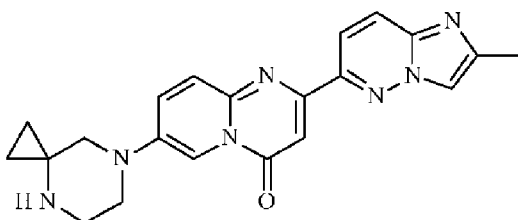


5 En un reactor de microondas se agitaron 2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-7-fluoro-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona (**intermedio 2**; 45 mg, 0,145 mmol), diclorhidrato de (R)-1,3'-bipirrolidina (62 mg, 0,291 mmol, 2,0 eq.) y DIPEA (0,20 ml, 1,16 mmol, 8 eq.) en NMP (3 ml) a 220 °C durante 1 hora. Se retiró el disolvente a alto vacío. Se tomó el residuo en CH₂Cl₂ y se lavó con una solución saturada acuosa de NaHCO₃. Se separó la capa orgánica y se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró a vacío.

10 Se purificó el producto bruto por cromatografía en columna (SiO₂, CH₂Cl₂/MeOH=de 98/2 a 90/10) para dar el producto del título (25 mg, 40 %) como un sólido amarillo claro. *m/z* de EM 430,3 [M+H⁺].

Ejemplo 19

15 7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona

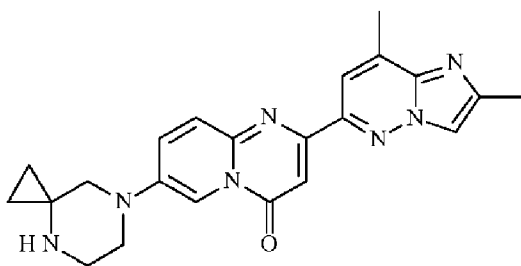


20 En un tubo sellado se agitaron 7-fluoro-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-4H-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona (**intermedio 1**; 50 mg, 0,169 mmol), DIPEA (0,24 ml, 1,35 mmol, 8 eq.) y diclorhidrato de 4,7-diazaespiro[2.5]octano (62,7 mg, 0,339 mmol, 2,0 eq.) en DMSO (2 ml) a 125 °C durante 2 días. Se retiró el disolvente a alto vacío. Se tomó el residuo en CH₂Cl₂ y se lavó con una solución saturada acuosa de NaHCO₃. Se separó la capa orgánica y se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró a vacío. Se purificó el producto bruto por cromatografía en columna (SiO₂, CH₂Cl₂/MeOH=de 95/5 a 90/10) para dar el producto del título (22 mg, 33 %) como un sólido amarillo claro. *m/z* de EM 388,3 [M+H⁺].

25

Ejemplo 20 (de acuerdo con la invención)

30 7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona

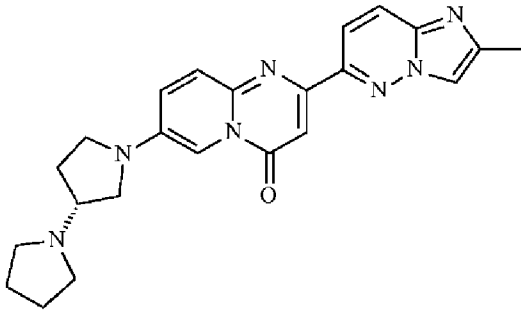


35 En un tubo sellado se agitaron 2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-7-fluoro-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona (**intermedio 2**; 50 mg, 0,162 mmol), DIPEA (0,22 ml, 1,29 mmol, 4 eq.) y diclorhidrato de 4,7-diazaespiro[2.5]octano (32 mg, 0,320 mmol, 3,0 eq.) en DMSO (2 ml) a 130 °C durante 48 horas. Se retiró el disolvente a alto vacío. Se tomó el residuo en CH₂Cl₂ y se lavó con una solución saturada acuosa de NaHCO₃. Se

separó la capa orgánica y se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró a vacío. Se purificó el producto bruto por cromatografía en columna (SiO₂, CH₂Cl₂/MeOH=de 98/2 a 95/5) para dar el producto del título (12 mg, 18 %) como un sólido amarillo claro. *m/z* de EM 402,3 [M+H⁺].

5 Ejemplo 21

2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-7-[(3R)-3-pirrolidin-1-ilpirrolidin-1-il]pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona



10

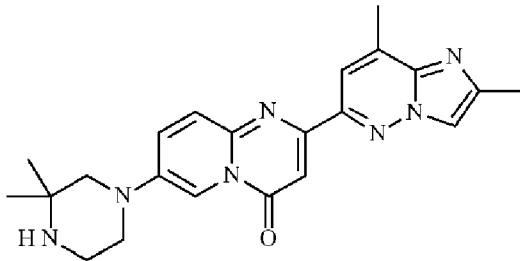
En un tubo sellado se agitaron 7-fluoro-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-4H-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona (**intermedio 1**; 40 mg, 0,135 mmol), DIPEA (0,19 ml, 1,08 mmol, 8 eq.) y diclorhidrato de (R)-1,3'-bipirrolidina (58 mg, 0,271 mmol, 2,0 eq.) en DMSO (4 ml) y se calentó a 220 °C durante 40 minutos en un microondas. Se retiró el disolvente a alto vacío. Se tomó el residuo en CH₂Cl₂ y se lavó con una solución saturada acuosa de NaHCO₃. Se separó la capa orgánica y se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró a vacío. Se purificó el producto bruto por cromatografía en columna (SiO₂, CH₂Cl₂/MeOH=de 98/2 a 90/10) para dar el producto del título (30 mg, 53 %) como un sólido amarillo claro. *m/z* de EM 416,3 [M+H⁺].

15

Ejemplo 22

20

2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-7-(3,3-dimetilpiperacina-1-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona



25

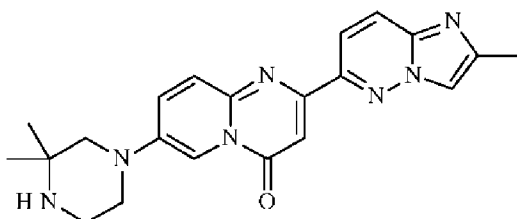
En un tubo sellado se agitaron 2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-7-fluoro-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona (**intermedio 2**; 40 mg, 0,129 mmol) y 2,2-dimetilpiperacina (59 mg, 0,517 mmol, 4,0 eq.) en DMSO (1,6 ml) a 130 °C durante la noche. Se retiró el disolvente a alto vacío. Se tomó el residuo en CH₂Cl₂ y se lavó con una solución saturada acuosa de NaHCO₃. Se separó la capa orgánica y se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró a vacío. Se purificó el producto bruto por cromatografía en columna (SiO₂, CH₂Cl₂/MeOH=de 95/5 a 9/1) para dar el producto del título (29 mg, 55 %) como un sólido amarillo claro. *m/z* de EM 404,3 [M+H⁺].

30

Ejemplo 23

35

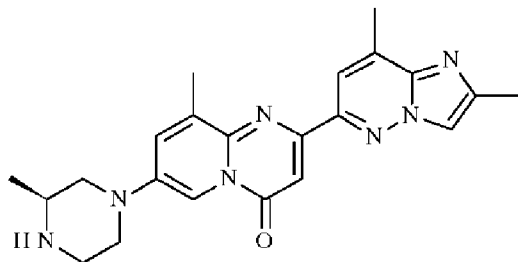
7-(3,3-dimetilpiperacina-1-il)-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona



En un tubo sellado se agitaron 7-fluoro-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-4H-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona (**intermedio 1**; 40 mg, 0,135 mmol) y 2,2-dimetilpiperacina (62 mg, 0,542 mmol, 4,0 eq.) en DMSO (2 ml) a 130 °C durante la noche. Se retiró el disolvente a alto vacío. Se tomó el residuo en CH₂Cl₂ y se lavó con una solución saturada acuosa de NaHCO₃. Se separó la capa orgánica y se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró a vacío. Se purificó el producto bruto por cromatografía en columna (SiO₂, CH₂Cl₂/MeOH=de 95/5 a 90/10) para dar el producto del título (26 mg, 49 %) como un sólido amarillo claro. *m/z* de EM 390,3 [M+H⁺].

Ejemplo 24

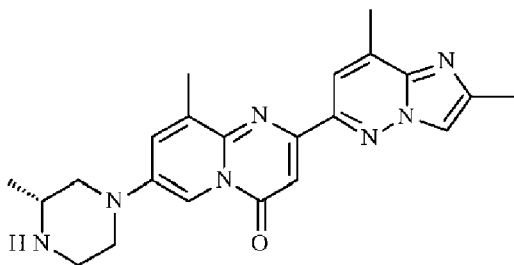
2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-9-metil-7-[(3S)-3-metilpiperacina-1-il]pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona



En un tubo sellado se agitaron 2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-7-fluoro-9-metil-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona (**intermedio 4**; 50 mg, 0,155 mmol) y (S)-2-metilpiperacina (62 mg, 0,619 mmol, 4,0 eq.) en DMSO (2 ml) a 125 °C durante la noche. Se retiró el disolvente a alto vacío. Se tomó el residuo en CH₂Cl₂ y se lavó con una solución saturada acuosa de NaHCO₃. Se separó la capa orgánica y se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró a vacío. Se purificó el producto bruto por cromatografía en columna (SiO₂, CH₂Cl₂/MeOH=de 95/5 a 90/10) para dar el producto del título (45 mg, 72 %) como un sólido amarillo claro. *m/z* de EM 404,3 [M+H⁺].

Ejemplo 25

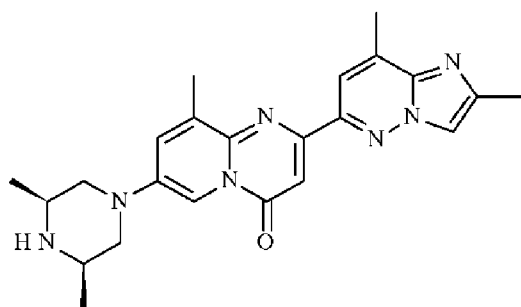
2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-9-metil-7-[(3R)-3-metilpiperacina-1-il]pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona



En un tubo sellado se agitaron 2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-7-fluoro-9-metil-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona (**intermedio 4**; 50 mg, 0,155 mmol) y (R)-2-metilpiperacina (62 mg, 0,619 mmol, 4,0 eq.) en DMSO (2 ml) a 125 °C durante la noche. Se retiró el disolvente a alto vacío. Se tomó el residuo en CH₂Cl₂ y se lavó con una solución saturada acuosa de NaHCO₃. Se separó la capa orgánica y se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró a vacío. Se purificó el producto bruto por cromatografía en columna (SiO₂, CH₂Cl₂/MeOH=de 95/5 a 90/10) para dar el producto del título (40 mg, 70 %) como un sólido amarillo claro. *m/z* de EM 404,3 [M+H⁺].

Ejemplo 26

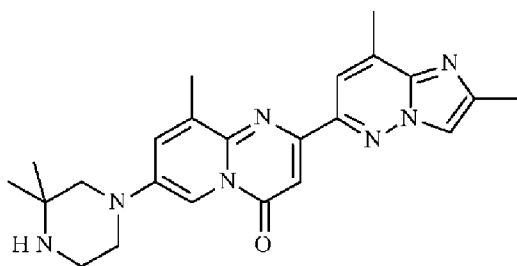
2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-7-[(3R,5S)-3,5-dimetilpiperacina-1-il]-9-metil-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona



En un tubo sellado se agitaron 2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-7-fluoro-9-metil-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona (**intermedio 4**; 50 mg, 0,155 mmol) y cis-2,6-dimetilpiperacina (70 mg, 0,619 mmol, 4,0 eq.) en DMSO (2 ml) a 125 °C durante la noche. Se retiró el disolvente a alto vacío. Se tomó el residuo en CH₂Cl₂ y se lavó con una solución saturada acuosa de NaHCO₃. Se separó la capa orgánica y se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró a vacío. Se purificó el producto bruto por cromatografía en columna (SiO₂, CH₂Cl₂/MeOH=de 95/5 a 90/10) para dar el producto del título (26 mg, 40 %) como un sólido amarillo claro. *m/z* de EM 418,3 [M+H⁺].

Ejemplo 27

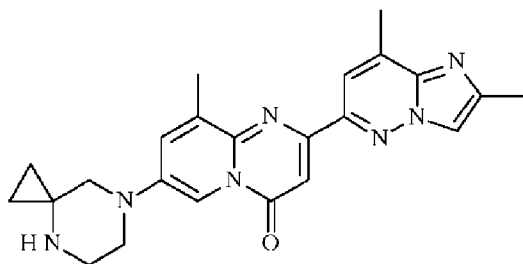
2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-7-(3,3-dimetilpiperacina-1-il)-9-metil-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona



En un tubo sellado se agitaron 2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-7-fluoro-9-metil-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona (**intermedio 4**; 50 mg, 0,155 mmol) y 2,2-dimetilpiperacina (35 mg, 0,309 mmol, 2,0 eq.) en DMSO (2 ml) a 125 °C durante la noche. Se retiró el disolvente a alto vacío. Se tomó el residuo en CH₂Cl₂ y se lavó con una solución saturada acuosa de NaHCO₃. Se separó la capa orgánica y se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró a vacío. Se purificó el producto bruto por cromatografía en columna (SiO₂, CH₂Cl₂/MeOH=de 95/5 a 90/10) para dar el producto del título (36 mg, 56 %) como un sólido amarillo claro. *m/z* de EM 418,3 [M+H⁺].

Ejemplo 28

7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-9-metil-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona

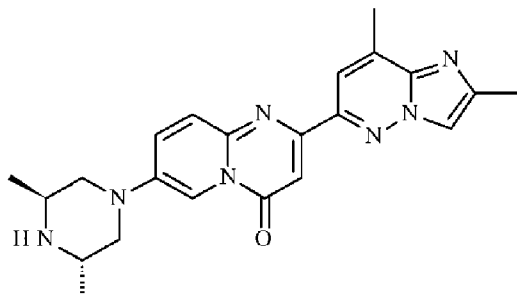


En un tubo sellado se agitaron 2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-7-fluoro-9-metil-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona (**intermedio 4**; 50 mg, 0,155 mmol), DIPEA (0,21 ml, 1,24 mmol, 8 eq.) y diclorhidrato de 4,7-diazaespiro[2.5]octano (57 mg, 0,309 mmol, 2,0 eq.) en DMSO (2 ml) a 125 °C durante 2 días. Se retiró el disolvente a alto vacío. Se tomó el residuo en CH₂Cl₂ y se lavó con una solución saturada acuosa de NaHCO₃. Se separó la capa orgánica y se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró a vacío. Se purificó el producto bruto por cromatografía en columna (SiO₂, CH₂Cl₂/MeOH=de 95/5 a

90/10) para dar el producto del título (17 mg, 26 %) como un sólido amarillo claro. m/z de EM 416,3 [M+H⁺].

Ejemplo 29

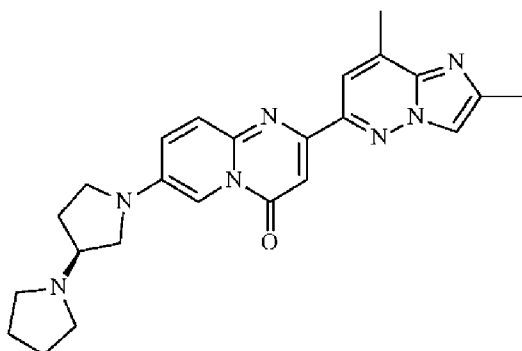
5 2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-7-[(3S,5S)-3,5-dimetilpiperacin-1-il]pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona



10 En un tubo sellado se agitaron 2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-7-fluoro-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona (**intermedio 2**; 50 mg, 0,162 mmol), TEA (0,18 ml, 1,29 mmol, 8 eq.) y diclorhidrato de (2S,6S)-2,6-dimetilpiperacina (90 mg, 0,485 mmol, 3,0 eq.) en DMSO (2 ml) a 140 °C durante la noche. Se retiró el disolvente a alto vacío. Se tomó el residuo en CH₂Cl₂ y se lavó con una solución saturada acuosa de NaHCO₃. Se separó la capa orgánica y se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró a vacío. Se purificó el producto bruto por cromatografía en columna (SiO₂, CH₂Cl₂/MeOH=de 95/5 a 9/1) para dar el producto del título (20 mg, 30 %) como un sólido amarillo claro. m/z de EM 404,3 [M+H⁺].

Ejemplo 30

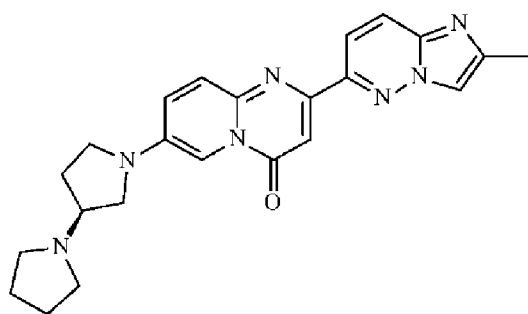
20 2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-7-[(3S)-3-pirrolidin-1-ilpirrolidin-1-il]pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona



25 En un tubo sellado se agitaron 2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-7-fluoro-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona (**intermedio 2**; 50 mg, 0,162 mmol), DIPEA (0,22 ml, 1,29 mmol, 8 eq.) y diclorhidrato de (S)-1,3'-bipirrolidina (103 mg, 0,485 mmol, 3,0 eq.) en NMP (2 ml) a 140 °C durante la noche. Se retiró el disolvente a alto vacío. Se tomó el residuo en CH₂Cl₂ y se lavó con una solución saturada acuosa de NaHCO₃. Se separó la capa orgánica y se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró a vacío. Se purificó el producto bruto por cromatografía en columna (SiO₂, CH₂Cl₂/MeOH=de 95/5 a 9/1) para dar el producto del título (22 mg, 32 %) como un sólido amarillo claro. m/z de EM 430,3 [M+H⁺].

Ejemplo 31

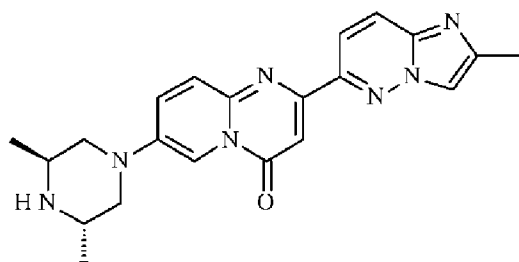
30 2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-7-[(3S)-3-pirrolidin-1-ilpirrolidin-1-il]pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona



5 En un tubo sellado se agitaron 7-fluoro-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-4H-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona (**intermedio 1**; 75 mg, 0,254 mmol), TEA (0,28 ml, 2,03 mmol, 8 eq.) y diclorhidrato de (S)-1,3'-bipirrolidina (162 mg, 0,762 mmol, 3,0 eq.) en NMP (4 ml) y se calentó a 220 °C durante 1 hora en un microondas. Se retiró el disolvente a alto vacío. Se tomó el residuo en CH₂Cl₂ y se lavó con una solución saturada acuosa de NaHCO₃. Se separó la capa orgánica y se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró a vacío. Se purificó el producto bruto por cromatografía en columna (SiO₂, CH₂Cl₂/MeOH=de 95/5 a 90/10) para dar el producto del título (12 mg, 11 %) como un sólido amarillo claro. *m/z* de EM 416,2 [M+H⁺].

10 Ejemplo 32

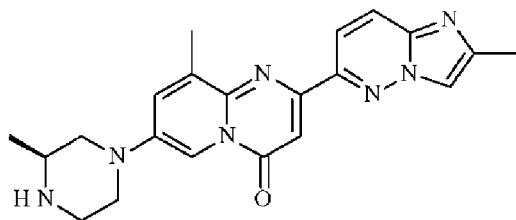
7-[(3S,5S)-3,5-dimetilpiperacin-1-il]-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona



15 En un tubo sellado se agitaron 7-fluoro-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-4H-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona (**intermedio 1**; 75 mg, 0,254 mmol), TEA (0,28 ml, 2,03 mmol, 8 eq.) y diclorhidrato de (2S,6S)-2,6-dimetilpiperacina (143 mg, 0,762 mmol, 3,0 eq.) en DMSO (3 ml) y se calentó a 140 °C durante la noche. Se retiró el disolvente a alto vacío. Se tomó el residuo en CH₂Cl₂ y se lavó con una solución saturada acuosa de NaHCO₃. Se separó la capa orgánica y se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró a vacío. Se purificó el producto bruto por cromatografía en columna (SiO₂, CH₂Cl₂/MeOH=de 95/5 a 90/10) para dar el producto del título (10 mg, 10 %) como un sólido amarillo claro. *m/z* de EM 390,3 [M+H⁺].

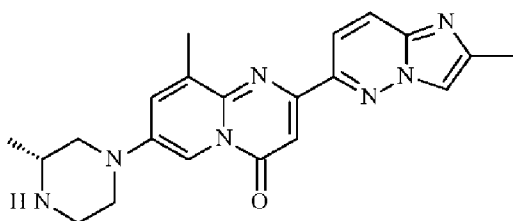
25 Ejemplo 33

9-metil-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-7-[(3S)-3-metilpiperacin-1-il]pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona



30 En un tubo sellado se agitaron 7-fluoro-9-metil-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona (**intermedio 3**; 250 mg, 0,808 mmol) y (S)-2-metilpiperacina (405 mg, 4,04 mmol, 5,0 eq.) en DMSO (6 ml) y se calentó a 130 °C durante la noche. Se retiró el disolvente a alto vacío. Se tomó el residuo en CH₂Cl₂ y se lavó con una solución saturada acuosa de NaHCO₃. Se separó la capa orgánica y se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró a vacío. Se purificó el producto bruto por cromatografía en columna (SiO₂, CH₂Cl₂/MeOH=de 95/5 a 85/15) para dar el producto del título (135 mg, 43 %) como un sólido amarillo claro. *m/z* de EM 390,3 [M+H⁺].

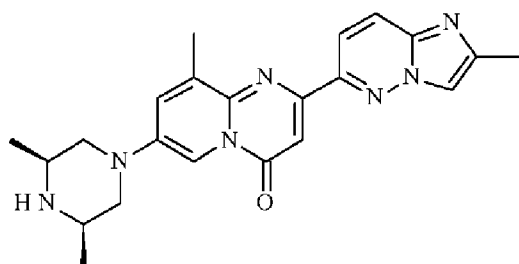
35 Ejemplo 34

9-metil-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-7-[(3R)-3-metilpiperacina-1-il]pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona

5

En un tubo sellado se agitaron 7-fluoro-9-metil-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona (**intermedio 3**; 250 mg, 0,808 mmol) y (R)-2-metilpiperacina (405 mg, 4,04 mmol, 5,0 eq.) en DMSO (6 ml) y se calentó a 130 °C durante la noche. Se retiró el disolvente a alto vacío. Se tomó el residuo en CH₂Cl₂ y se lavó con una solución saturada acuosa de NaHCO₃. Se separó la capa orgánica y se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró a vacío. Se purificó el producto bruto por cromatografía en columna (SiO₂, CH₂Cl₂/MeOH=de 95/5 a 85/15) para dar el producto del título (100 mg, 32 %) como un sólido amarillo claro. *m/z* de EM 390,3 [M+H⁺].

10

Ejemplo 35**7-[(3R,5S)-3,5-dimetilpiperacina-1-il]-9-metil-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona**

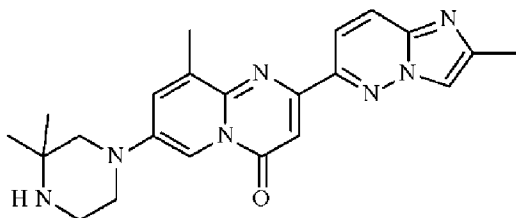
20

En un tubo sellado se agitaron 7-fluoro-9-metil-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona (**intermedio 3**; 250 mg, 0,808 mmol) y (2S,6R)-2,6-dimetilpiperacina (461 mg, 4,04 mmol, 5,0 eq.) en DMSO (6 ml) y se calentó a 130 °C durante la noche. Se retiró el disolvente a alto vacío. Se tomó el residuo en CH₂Cl₂ y se lavó con una solución saturada acuosa de NaHCO₃. Se separó la capa orgánica y se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró a vacío. Se purificó el producto bruto por cromatografía en columna (SiO₂, CH₂Cl₂/MeOH=de 95/5 a 85/15) para dar el producto del título (101 mg, 31 %) como un sólido amarillo claro. *m/z* de EM 404,3 [M+H⁺].

25

Ejemplo 36**7-(3,3-dimetilpiperacina-1-il)-9-metil-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona**

30

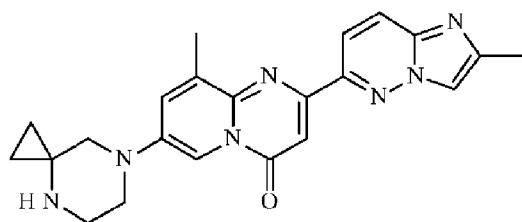


En un tubo sellado se agitaron 7-fluoro-9-metil-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona (**intermedio 3**; 250 mg, 0,808 mmol) y 2,2-dimetilpiperacina (461 mg, 4,04 mmol, 5,0 eq.) en DMSO (6 ml) y se calentó a 130 °C durante la noche. Se retiró el disolvente a alto vacío. Se tomó el residuo en CH₂Cl₂ y se lavó con una solución saturada acuosa de NaHCO₃. Se separó la capa orgánica y se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró a vacío. Se purificó el producto bruto por cromatografía en columna (SiO₂, CH₂Cl₂/MeOH=de 95/5 a 85/15) para dar el producto del título (120 mg, 36 %) como un sólido amarillo claro. *m/z* de EM 404,3 [M+H⁺].

35

Ejemplo 37**7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-9-metil-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona**

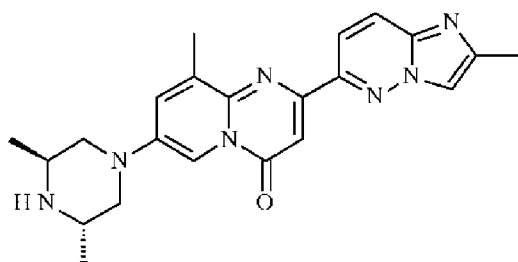
40



5 En un tubo sellado se agitaron 7-fluoro-9-metil-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona (**intermedio 3**; 125 mg, 0,404 mmol), K_2CO_3 (223 mg, 1,62 mmol, 4 eq.) y diclorhidrato de 4,7-diazaespiro[2.5]octano (112 mg, 0,606 mmol, 1,5 eq.) en DMA (2 ml) y se calentó a 130 °C durante la noche. Se retiró el disolvente a alto vacío. Se tomó el residuo en CH_2Cl_2 y se lavó con una solución saturada acuosa de $NaHCO_3$. Se separó la capa orgánica y se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró a vacío. Se purificó el producto bruto por cromatografía en columna (SiO_2 , $CH_2Cl_2/MeOH=de$ 95/5 a 90/10) para dar el producto del título (75 mg, 46 %) como un sólido amarillo claro. m/z de EM 402,2 $[M+H^+]$.

Ejemplo 38

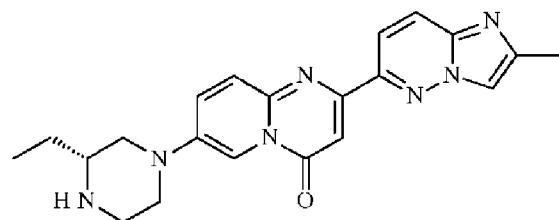
15 **7-[(3S,5S)-3,5-dimetilpiperacin-1-il]-9-metil-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona**



20 En un tubo sellado se agitaron 7-fluoro-9-metil-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona (**intermedio 3**; 125 mg, 0,404 mmol), K_2CO_3 (223 mg, 1,62 mmol, 4 eq.) y diclorhidrato de (2S,6S)-2,6-dimetilpiperacina (113 mg, 0,606 mmol, 1,5 eq.) en DMA (2 ml) y se calentó a 130 °C durante la noche. Se retiró el disolvente a alto vacío. Se tomó el residuo en CH_2Cl_2 y se lavó con una solución saturada acuosa de $NaHCO_3$. Se separó la capa orgánica y se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró a vacío. Se purificó el producto bruto por cromatografía en columna (SiO_2 , $CH_2Cl_2/MeOH=de$ 95/5 a 90/10) para dar el producto del título (50 mg, 31 %) como un sólido amarillo claro. m/z de EM 404,3 $[M+H^+]$.

Ejemplo 39

30 **7-[(3R)-3-etilpiperacin-1-il]-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona**



35 En un tubo sellado se agitaron 7-fluoro-2-(2-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)-4H-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona (**intermedio 1**; 200 mg, 0,677 mmol), K_2CO_3 (374 mg, 2,71 mmol, 4 eq.) y diclorhidrato de (R)-2-etilpiperacina (238 mg, 0,606 mmol, 1,5 eq.) en DMA (3 ml) a 100 °C durante 4 días. Se retiró el disolvente a alto vacío. Se purificó el producto bruto por cromatografía en columna (SiO_2 , $CH_2Cl_2/MeOH=de$ 95/5 a 8/2) para dar el producto del título (168 mg, 64 %) como un sólido amarillo claro. m/z de EM 390,2 $[M+H^+]$.

Ejemplo 40

40

Ensayo de RT-qPCR de empalme de ARNm del minigén SMN2 en células cultivadas

Para describir con más detalle y ayudar a entender la presente descripción, se ofrecen los siguientes ejemplos biológicos no limitantes para ilustrar más completamente el alcance de la descripción y no se han de interpretar como específicamente limitantes del alcance de la misma. Dichas variaciones de la presente descripción que se pueden conocer ahora o desarrollarse más tarde, que estarían dentro del ámbito de un experto en la técnica a establecer, se considera que se encuentran dentro del alcance de la presente descripción y como se reivindican a continuación en el presente documento. Estos ejemplos ilustran las pruebas de determinados compuestos descritos en el presente documento *in vitro* y/o *in vivo* y demuestran la utilidad de los compuestos para el tratamiento de la AME potenciando la inclusión del exón 7 de SMN2 en el ARNm transcrito del gen SMN2. Los compuestos de fórmula (I) potencian la inclusión del exón 7 de SMN2 en el ARNm transcrito del gen SMN2 e incrementan los niveles de proteína SMN producida a partir del gen SMN2 y, por tanto, se pueden usar para tratar la AME en un sujeto humano que necesite los mismos. Estos ejemplos ilustran además las pruebas de determinados compuestos descritos en el presente documento *in vitro* y/o *in vivo* y demuestran la utilidad de los compuestos para potenciar la inclusión del exón 7 de SMN1 en el ARNm transcrito a del gen SMN1. En consecuencia, los compuestos de fórmula (I) también potencian la inclusión del exón 7 de SMN1 en el ARNm transcrito del gen SMN1 e incrementan los niveles de proteína SMN producida a partir del gen SMN1.

Se usa el ensayo basado en PCR cuantitativa de retrotranscripción (RT-qPCR) para cuantificar el nivel del ARNm del minigén SMN2 de longitud completa (denominado en el presente documento por el término "FL SMN2mini") que contiene el exón 7 de SMN2 en una línea celular HEK293H transfectada de forma estable con dicho minigén y tratada con un compuesto de prueba. Los materiales usados y las fuentes respectivas se enumeran a continuación en la tabla 1.

Material	Fuente
Células HEK293H	Life Technologies, Inc. (anteriormente Invitrogen) n.º de catálogo 11631-017
Tampón de lisis Cells-To-Ct	Life Technologies, Inc. (anteriormente Applied Biosystems) n.º de parte 4399002
DMEM	Life Technologies, Inc. (anteriormente Invitrogen) n.º de catálogo 11960-044
Placas de fondo plano de 96 pocillos	Becton Dickinson n.º de catálogo 353072
Mezcla enzimática para RT-PCR	Life Technologies, Inc. (anteriormente Applied Biosystems) n.º de parte 4388520
Tampón para RT-PCR	Life Technologies, Inc. (anteriormente Applied Biosystems) n.º de parte 4388519
Kit para RT-PCR AgPath-ID One-Step	Life Technologies, Inc. (anteriormente Applied Biosystems) n.º de parte 4387391
Termociclador	Life Technologies, Inc. (anteriormente Applied Biosystems) 7900HT

Tabla 1. Materiales y sus fuentes respectivas usadas en el ensayo de RT-qPCR de empalme de ARNm del minigén SMN2 en células cultivadas.

Se preparó la construcción de minigén SMN2-A como se describe en la solicitud de patente internacional WO2009/151546A1, de página 145, párrafo [00400], a página 147, párrafo [00412] (incl. figura 1 y figura 3 en la misma).

Se siembran células HEK293H transfectadas de forma estable con la construcción de minigén SMN2-A (10.000 células/pocillo) en 200 µl de medio de cultivo celular (DMEM más FBS al 10 %, con 200 µg/ml de higromicina) en placas de fondo plano de 96 pocillos y de inmediato se remueve la placa para garantizar la dispersión apropiada de células y la formación de una monocapa uniforme de células. Se permite que las células se adhieran durante 6 horas. Se diluyen en serie 3,16 veces los compuestos de prueba en DMSO al 100 % para generar una curva de concentración de 7 puntos. Se añade una solución del compuesto de prueba (1 µl, 200x en DMSO) a cada pocillo que contiene células y se incuba la placa durante 24 horas en una estufa de incubación de cultivo celular (37 °C, CO₂ al 5 %, 100 % de humedad relativa). Se preparan 2 duplicados para cada concentración de compuesto de prueba. A continuación, se lisan las células en el tampón de lisis Cells-To-Ct y se almacena el lisado a -80 °C.

Se cuantifican el minigén SMN2-A de longitud completa y el ARNm de GAPDH usando los cebadores y sondas a los que se hace referencia en el documento WO2014/209841A2 en la página 80 en la tabla 1. El cebador directo de SMN A (SEQ ID NO. 1) se hibrida a una secuencia de nucleótidos en el exón 7 (de nucleótido 22 a nucleótido 40), el cebador inverso de SMN A (SEQ ID NO. 2) se hibrida a una secuencia de nucleótidos en la secuencia de codificación de la luciferasa de luciérnaga, la sonda de SMN A (SEQ ID NO. 3) se hibrida a una secuencia de nucleótidos en el exón 7 (de nucleótido 50 a nucleótido 54) y el exón 8 (de nucleótido 1 a nucleótido 21). La combinación de estos tres oligonucleótidos detecta solo los minigenes SMN1 o SMN2 (RT-qPCR) y no detectará los genes SMN1 o SMN2 endógenos.

Los cebadores directo e inverso de SMN se usan a concentraciones finales de 0,4 µM. La sonda de SMN se usa a

una concentración final de 0,15 μ M. Los cebadores de GAPDH se usan a concentraciones finales de 0,2 μ M y la sonda a 0,15 μ M.

5 Se prepara la mezcla minigén SMN2-GAPDH (15 μ l de volumen total) combinando 7,5 μ l de 2x tampón de RT-PCR, 0,4 μ l de 25x mezcla enzimática para RT-PCR, 0,75 μ l de 20x mezcla de cebador-sonda de GAPDH, 4,0075 μ l de agua, 2 μ l de lisado celular diluido 10 veces, 0,06 μ l de cebador directo de SMN 100 μ M, 0,06 μ l de cebador inverso de SMN 100 μ M y 0,225 μ l de sonda de SMN 100 μ M.

10 Se lleva a cabo la PCR a las siguientes temperaturas durante el tiempo indicado: etapa 1: 48 °C (15 min); etapa 2: 95 °C (10 min); etapa 3: 95 °C (15 s); etapa 4: 60 °C (1 min); a continuación se repiten las etapas 3 y 4 para un total de 40 ciclos.

15 Cada mezcla de reacción contiene tanto el minigén SMN2-A como conjuntos de cebadores/sonda de GAPDH (diseño múltiple), permitiendo la medición simultánea de los niveles de dos transcritos.

20 El incremento en la abundancia del ARNm de FL SMN2mini en relación con el de las células tratadas con control de vehículo se determina a partir de datos de PCR ultrarrápida usando un procedimiento $\Delta\Delta$ Ct modificado (como se describe en *Livak y Schmittgen, Methods, 2001, 25:402-8*). La eficacia de amplificación E se calcula a partir de la pendiente de la curva de amplificación para FL SMN2mini y GAPDH individualmente. A continuación, se calcula la abundancia de ARNm de FL SMN2mini y GAPDH como $(1 + E)^{-Ct}$, donde Ct es el valor de umbral para cada amplión. La abundancia de ARNm de FL SMN2mini se normaliza con respecto a la abundancia de ARNm de GAPDH. La abundancia de ARNm de FL SMN2mini normalizada a partir de muestras tratadas con compuesto de prueba se divide a continuación entre la abundancia de ARNm de FL SMN2mini normalizada de células tratadas con vehículo para determinar el nivel de ARNm de FL SMN2mini en relación con el control de vehículo.

25 La tabla 2 proporciona concentraciones $CE_{1,5x}$ para la producción de ARNm del minigén SMN2 de longitud completa que se obtuvo a partir de los datos de concentración de 7 puntos generados de acuerdo con el procedimiento anterior para compuestos particulares de la presente invención.

30 Los compuestos particulares de la presente invención presentan una concentración $CE_{1,5x}$ para la producción de ARNm del minigén SMN2 de longitud completa $\leq 1 \mu$ M.

35 Los compuestos más particulares de la presente invención presentan una concentración $CE_{1,5x}$ para la producción de ARNm del minigén SMN2 de longitud completa $\leq 0,1 \mu$ M.

Los compuestos lo más particulares de la presente invención presentan una concentración $CE_{1,5x}$ para la producción de ARNm del minigén SMN2 de longitud completa $\leq 0,02 \mu$ M.

Ejemplo	$CE_{1,5x}$ de minigén (nM)	Ejemplo	$CE_{1,5x}$ de minigén (nM)	Ejemplo	$CE_{1,5x}$ de minigén (nM)
1	3,5	14	4,1	27	39,9
2	3,8	15	4	28	5
3	3,2	16	1,1	29	0,3
4	1,8	17	6,4	30	3
5	0,6	18	3,6	31	6,7
6	2,8	19	10,2	32	1,6
7	3,7	20	4,3	33	0,5
8	0,3	21	9,6	34	0,9
9	0,1	22	0,9	35	4,7
10	6,4	23	3,4	36	5
11	1,4	24	0,4	37	4,4
12	1,2	25	0,5	38	0,3
13	5	26	327	39	0,9

40 Tabla 2. Concentraciones $CE_{1,5x}$ para la producción de ARNm del minigén SMN2 de longitud completa.

Ejemplo 41**Ensayo de proteína SMN en células cultivadas**

- 5 El ensayo HTRF (fluorescencia homogénea resuelta en el tiempo) para SMN se usa para cuantificar el nivel de proteína SMN en células fibroblastos de pacientes con AME tratadas con compuestos de prueba. Los materiales usados y las fuentes respectivas se enumeran a continuación en la tabla 3.

Material	Fuente
Células humanas de AME de tipo 1	GM03813 (Coriell Institute)
Combinado de inhibidores de proteasa	Roche Applied Science n.º de catálogo 11836145001
Anti-SMN d2	Blue cap Cisbio n.º de catálogo 63IDC002-SMN
Anti-SMN con criptato	Red cap Cisbio n.º de catálogo 63IDC002-SMN
Tampón de reconstitución de SMN	Cisbio n.º de catálogo 63IDC002-SMN-Buffer
DMEM	Life Technologies (anteriormente Invitrogen) n.º de catálogo 11960-044
Tampón de lisis RIPA	Tris-HCl 20 mM pH 7,5, NaCl 150 mM, EDTA 1 mM, solución detergente Thermo Scientific NP-40 Surfact-Amps al 1 % (Fisher Scientific, Pittsburgh/PA), desoxicolato de sodio al 1 %
Tampón diluyente	Tris-HCl 20 mM pH 7,5, NaCl 150 mM
Lector de placas EnVision	Perkin Elmer modelo n.º 2103

- 10 Tabla 3. Materiales y sus fuentes respectivas usados en el ensayo de proteína SMN en células cultivadas.

Se descongelan las células y se cultivan en DMEM-FBS al 10 % durante 72 horas. Se tripsinizan las células, se cuentan y se resuspenden hasta una concentración de 25.000 células/ml en DMEM-FBS al 10 %. Se siembran las suspensiones celulares a 5.000 células por pocillo en una placa de microvaloración de 96 pocillos y se incuban durante de 3 a 5 horas. Se diluyen en serie 3,16 veces los compuestos de prueba en DMSO al 100 % para generar una curva de concentración de 7 puntos. Se transfiere 1 µl de solución de compuesto de prueba a pocillos que contienen células y se incuban las células durante 48 horas en una estufa de incubación de cultivo celular (37 °C, CO₂ al 5 %, 100 % de humedad relativa). Se preparan muestras por triplicado para cada concentración de compuesto de prueba. Después de 48 horas, se retira el sobrenadante de los pocillos y se añaden 25 µl del tampón de lisis RIPA, que contiene inhibidores de proteasa, a los pocillos y se incuban con agitación a temperatura ambiente durante 1 hora. Se añaden 25 µl del diluyente y a continuación se transfieren 35 µl del lisado resultante a una placa de 384 pocillos, donde cada pocillo contiene 5 µl de la solución de anticuerpo (dilución 1:100 de anti-SMN d2 y anti-SMN con criptato en tampón de reconstitución de SMN). Se centrifuga la placa durante 1 minuto para llevar la solución al fondo de los pocillos, a continuación se incuban durante la noche a temperatura ambiente. Se mide la fluorescencia para cada pocillo de la placa a 665 nm y 620 nm en un lector de placas EnVision Multilabel (Perkin-Elmer).

Se calcula la señal de fluorescencia normalizada para cada pocillo de muestra, blanco y control de vehículo, dividiendo la señal a 665 nm entre la señal a 620 nm. La normalización de la señal explica la posible extinción de fluorescencia debido al efecto de matriz del lisado. Se calcula el valor de ΔF (una medición de la abundancia de proteína SMN como valor porcentual) para cada pocillo de muestra restando la fluorescencia promedio normalizada para los pocillos de control de blanco de la fluorescencia normalizada para cada pocillo de muestra, dividiendo a continuación esta diferencia entre la fluorescencia promedio normalizada para los pocillos de control de blanco y multiplicando el valor resultante por 100. El valor de ΔF para cada pocillo de muestra representa la abundancia de proteína SMN de las muestras tratadas con compuesto de prueba. El valor de ΔF para cada pocillo de muestra se divide entre el valor de ΔF para los pocillos de control de vehículo para calcular el incremento de veces en la abundancia de proteína SMN en relación con el control de vehículo. La tabla 4 proporciona concentraciones $CE_{1,5x}$ para la expresión de proteína SMN que se obtuvo a partir de los datos de concentración de 7 puntos generados de acuerdo con el procedimiento anterior para compuestos particulares de la presente invención.

Los compuestos particulares de la presente invención presentan una concentración $CE_{1,5x}$ para la expresión de

proteína SMN $\leq 1 \mu\text{M}$.

Los compuestos más particulares de la presente invención presentan una concentración $\text{CE}_{1,5x}$ para la expresión de proteína SMN $\leq 100 \text{ nM}$.

5 Los compuestos más particulares de la presente invención presentan una concentración $\text{CE}_{1,5x}$ para la expresión de proteína SMN $\leq 30 \text{ nM}$.

10 La tabla 5 proporciona el incremento en veces máximo de la proteína SMN que se obtuvo a partir de los datos de concentración de 7 puntos generados de acuerdo con el procedimiento anterior para compuestos particulares de la presente invención

Los compuestos particulares de la presente invención presentan un incremento en veces máximo $> 1,5$.

15 Los compuestos más particulares de la presente invención presentan un incremento en veces máximo $> 1,7$.

Los compuestos más particulares de la presente invención presentan un incremento en veces máximo $> 1,8$.

Ejemplo	$\text{CE}_{1,5x}$ de proteína SMN (nM)	Ejemplo	$\text{CE}_{1,5x}$ de proteína SMN (nM)	Ejemplo	$\text{CE}_{1,5x}$ de proteína SMN (nM)
1	10,8	14	17,6	27	126,5
2	19,8	15	21,2	28	49,7
3	25,6	16	3	29	2,1
4	15,7	17	20,2	30	13,6
5	4,1	18	25	31	27,7
6	11	19	29,8	32	4
7	15,5	20	37	33	4
8	5,9	21	68,7	34	4,4
9	2,5	22	13,8	35	19,5
10	22,8	23	23,9	36	34,4
11	7	24	4,7	37	45
12	7,5	25	11,9	38	3,1
13	3	26	1230	39	15,8

20 Tabla 4. Concentraciones $\text{CE}_{1,5x}$ para la expresión de proteína SMN.

Ejemplo	incremento en veces máx.	Ejemplo	incremento en veces máx.	Ejemplo	incremento en veces máx.
1	1,84	14	1,86	27	1,57
2	1,76	15	1,94	28	1,72
3	1,81	16	1,83	29	1,81
4	1,76	17	1,98	30	1,84
5	1,71	18	1,75	31	1,65
6	1,84	19	1,83	32	1,88
7	1,76	20	1,72	33	1,82
8	1,85	21	1,54	34	1,89
9	1,92	22	1,69	35	1,79
10	1,95	23	1,63	36	1,77

11	1,9		24	1,77		37	1,87
12	1,77		25	1,79		38	1,85
13	1,91		26	1,52		39	1,81

Tabla 5. Incremento en veces máximo de proteína SMN.

Ejemplo 42 (de acuerdo con la invención)

5

Ensayo *in vitro* **de**
7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona
(ejemplo 20)

10 El compuesto del ejemplo 20 es un modificador de empalme de SMN2 de molécula pequeña disponible por vía oral para el tratamiento de AME. Se ha descubierto que el compuesto del ejemplo 20 corrige eficazmente el empalme disfuncional del pre-ARNm de SMN2 humano en células cultivadas de pacientes (fibroblastos de AME de tipo 1) desplazando completamente el equilibrio de la reacción de empalme alternativo hacia la inclusión del exón 7 de SMN2 y la producción del ARNm de longitud completa (figura 1A: CE₅₀ 29 ± 8 nM para FL, 12 ± 1 nM para ARNm Δ7). El tratamiento de células que expresan el minigén SMN2 con concentraciones crecientes del compuesto del ejemplo 20 dio como resultado un incremento dependiente de la dosis en la cantidad de ARNm de longitud completa del minigén SMN2. La CE_{1,5x} fue de 4,7 ± 0,7 nM y la inducción máxima fue 20 veces. Los resultados de ensayo de minigén confirman que el compuesto del ejemplo 20 es un potente modificador de empalme de SMN2.

20 Para investigar la producción de proteína SMN como consecuencia del empalme alternativo, se realizó un ensayo *in vitro* para evaluar los niveles de proteína SMN en fibroblastos y en motoneuronas medulares derivadas de iPSC (células madre pluripotentes inducidas) de pacientes con AME (CE₅₀ de 12±3 nM, y CE₅₀ 182 ± 114 nM, respectivamente). El incremento máximo de proteína SMN por encima de las células no tratadas dio como resultado niveles similares en ambos tipos de células (60 – 80 %; figuras 1B y 1C), lo que sugiere que en diferentes tipos de células de pacientes con AME, el compuesto del ejemplo 20 incrementa el nivel de proteína SMN de forma similar como resultado de corregir el empalme de SMN2 disfuncional *in vitro*.

30 Para evaluar además el empalme de SMN2 como potencial biomarcador sanguíneo, se desarrolló un ensayo *ex vivo* usando células de sangre completa de voluntarios sanos en el que se evaluó el empalme de SMN1 y SMN2 después de 4 horas de tratamiento con el compuesto del ejemplo 20 (en este punto temporal, se lograron cambios de empalme máximos). Mientras que el empalme de SMN1 no se vio afectado en gran medida, el empalme de SMN2 se modificó de forma dependiente de la dosis hacia la inclusión del exón 7 (figura 1D). Los efectos sobre el empalme fueron evidentes en concentraciones por encima de 100 nM del compuesto del ejemplo 20, lo que sugiere que estos niveles en la sangre son necesarios para observar los efectos farmacodinámicos (PD) *in vivo* sobre el empalme de SMN2 con este ensayo.

35

Ejemplo 43 (de acuerdo con la invención)

Ensayo *in vivo* **de**
7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona
(ejemplo 20)

45 *In vivo*, el compuesto del ejemplo 20 incrementa la proteína SMN en el cerebro y el músculo en el modelo con SMNΔ7 grave y el modelo con alelo C/C más leve, que porta transgenes SMN2 humanos. Se trataron ratones adultos con alelo C/C durante 10 días con vehículo o el compuesto del ejemplo 20 (1, 3 o 10 mg/kg PO, diariamente), y se trataron ratones con SMNΔ7 de 3 días de edad (P3) durante 7 días con vehículo o el compuesto del ejemplo 20 (0,1, 0,3, 1 o 3 mg/kg IP, diariamente). El compuesto del ejemplo 20 incrementó de forma dependiente de la dosis los niveles de proteína SMN en el cerebro y el tejido muscular, con un efecto máximo de un incremento de 2-3 veces alcanzado a 10 mg/kg en ratones adultos con alelo C/C y a 1-3 mg/kg en ratones con SMNΔ7 neonatales (figura 2). Por tanto, en el músculo de ratones con alelo C/C a la dosis de 10 mg/kg, los niveles de SMN alcanzados no fueron diferentes de los de ratones heterocigotos. En ratones con SMNΔ7, el incremento de proteína SMN fue solo parcial tanto en el cerebro como en el músculo, alcanzando aproximadamente un 43 % (cerebro) y un 55 % (músculo) de los niveles de proteína en ratones heterocigotos. Estos datos demuestran que el compuesto del ejemplo 20 incrementa la proteína SMN tanto en el cerebro como en los tejidos musculares de modelos de ratón transgénico de AME.

55

60 Se evaluaron los beneficios funcionales en los modelos de ratón con AME grave y leve. Se trataron ratones con SMNΔ7 desde P3 hasta P23 una vez al día por inyección IP de vehículo o el compuesto del ejemplo 20, y desde P24 en adelante una vez al día por alimentación forzada oral. Durante el período de tratamiento, se supervisó el peso corporal y la supervivencia de los animales. Durante el período de observación de 100 días, solo murieron dos compañeros de camada heterocigotos. Por el contrario, todos los ratones tratados con vehículo murieron antes de

P21 con una mediana de tiempo de supervivencia (MST) de 10,5 días. El tratamiento del ejemplo 20 prolongó la supervivencia de los animales dependiente de la dosis (figura 3A). Se observó una prolongación menor pero significativa de MST hasta P26 a una dosis menor (0,1 mg/kg IP hasta P23 y 0,3 mg/kg PO después de esto). Los grupos de tratamiento de dosis media (0,3 mg/kg IP hasta P23 y 1 mg/kg PO después de esto), media/alta (1 mg/kg IP hasta P23 y 3 mg/kg PO después de esto) y alta (3 mg/kg IP hasta P23 y 10 mg/kg PO después de esto) dieron como resultado que un 80 %, 82 % y 73 % respectivamente, de los animales sobrevivieron hasta P100, no diferentes de los compañeros de camada heterocigotos con un 83 % que sobrevivió en P100.

El incremento de peso corporal de los ratones con SMNΔ7 a lo largo del estudio se vio gravemente afectado y sólo se corrigió levemente con la dosis baja del compuesto del ejemplo 20. El tratamiento con las dosis media, media/alta y alta del compuesto del ejemplo 20 dio como resultado una recuperación de un 71 %, 82 % y 85 %, respectivamente, en el aumento de peso corporal en comparación con compañeros de camada heterocigotos que no muestran ningún fenotipo relacionado con AME (figura 3B). Estos datos sugieren que el tratamiento con el compuesto del ejemplo 20 evita de forma dependiente de la dosis la manifestación del fenotipo de AME en los ratones con SMNΔ7 gravemente afectados cuando la dosificación se inicia en P3.

Por último, el compuesto del ejemplo 20 mejora la conectividad neuromuscular en un modelo de ratón con AME grave *in vivo*. Se trataron ratones con SMNΔ7 desde P3 hasta P14 por aplicación IP de vehículo o 0,1, 0,3, 1 mg/kg del ejemplo 20 una vez al día. En P14, 1 hora después de la última dosis, se procesaron la médula espinal y los tejidos musculares para evaluación histológica. En relación con los compañeros de camada heterocigotos, los ratones con SMNΔ7 mostraron una pérdida significativa de entradas de motoneuronas propiosensibles del transportador de glutamato vesicular 1 (vGlut1), pérdida de axones motores, desnervación de la unión neuromuscular (NMJ) en el músculo dorsal largo y atrofia muscular. El tratamiento del ejemplo 20 incrementó significativamente y de forma dependiente de la dosis el número de entradas de vGlut1, el número de axones motores, el porcentaje de NMJ completamente inervados y el tamaño de fibra en los músculos extensores largos de los dedos (EDL) en relación con los ratones con SMNΔ7 tratados con vehículo (figura 4). Estos datos sugieren que el tratamiento con el compuesto del ejemplo 20, cuando se inicia en P3, protege los aspectos tanto centrales como periféricos de la desnervación de NMJ y protege contra la atrofia muscular en ratones con SMNΔ7 gravemente afectados.

Ejemplo 44 (de acuerdo con la invención)

Análisis de perfiles transcripcionales de 7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacín-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona (ejemplo 20)

Para identificar otros genes potenciales empalmados de forma alternativa por el compuesto del ejemplo 20, se realizó un análisis de perfiles transcripcionales que reveló que los acontecimientos de empalme de unos pocos genes también se vieron afectados a una concentración terapéuticamente pertinente de 121 nM (CE₉₀, 10 veces mayor que la CE₅₀): STRN3, SLC25A17 y GGCT en comparación con el control. Hasta el momento no se han dilucidado la función específica de STRN3, SLC25A17 y GGCT y las consecuencias de su regulación incorrecta. Estos tres genes también se ven afectados de forma consecuente a la dosis mayor (5 veces mayor que la CE₉₀), una dosis usada para ilustrar el efecto máximo de este compuesto. Los acontecimientos de empalme de 11 genes, incluyendo los genes FoxM1 y MADD, se vieron afectados a la dosis mayor pero no por la dosis menor. Se ha descrito que FoxM1 y MADD están implicados en la regulación del ciclo celular y la apoptosis, respectivamente. Un informe reciente sobre modificadores de empalme de SMN2 sugiere que el compuesto del ejemplo 20 es relativamente específico en comparación con otra molécula, NVS-SM1, para la que hubo 39 acontecimientos candidatos en los que el empalme cambió en respuesta al tratamiento [Palacino *et al.*, Nat Chem Biol. Julio de 2015; 11(7):511-7].

Además, el análisis de perfiles transcripcionales demostró que los niveles de expresión de 0 genes cambiaron ($p < 0,01$) tras el tratamiento con el compuesto del ejemplo 20 a la dosis de 121 nM. Estos datos demuestran la especificidad relativa del compuesto en comparación con los datos publicados sobre los cambios del nivel de expresión de otra molécula de empalme SMN2 alternativa, NVS-SM1, en la que había 175 genes cambiados en más de ± 2 veces ($p < 0,05$), y NVS-SM3 que modificó significativamente 23 genes [Palacino *et al.*, Nat Chem Biol. Julio de 2015; 11(7):511-7].

FoxM1, un gen empalmado de forma alternativa por otros compuestos modificadores de empalme, codifica un regulador del ciclo celular. Solo en seres humanos y primates superiores, la variante FoxM1a transcripcionalmente inactiva contiene el exón 9 (FL) y las variantes FoxM1b/c transcripcionalmente activas carecen del exón 9 ($\Delta 9$) [Ye *et al.*, Future Oncol. Febrero de 2007; 3 (1):1-3. Laoukili *et al.*, Biochim Biophys Acta. Enero de 2007; 1775(1):92-102]. Usando RT qPCR con cebadores específicos para FoxM1a (FL) y FoxM1b/c ($\Delta 9$), se confirmó la modificación del empalme alternativo de FoxM1 después del tratamiento del ejemplo 20 (CE₅₀ 67 \pm 32 nM para ARNm de FL, 139 \pm 43 nM para ARNm de $\Delta 9$; véase la figura 5). La expresión incrementada de la isoforma FoxM1A, conjuntamente con la expresión disminuida de las isoformas FoxM1 que carecen del exón 9, puede alterar e inhibir la progresión del ciclo celular si los cambios de empalme están en un nivel que es biológicamente

significativo. Por tanto, el compuesto del ejemplo 20 actúa de manera similar sobre el mecanismo de empalme de SMN2 y FoxM1, pero con resultados opuestos con respecto a la función de la proteína y en diversos grados. La CE₅₀ para MADD, un gen identificado también como afectado por modificadores de empalme que incluyen el compuesto del ejemplo 20 en altas concentraciones y conocido por estar implicado en procesos apoptóticos, se desconoce.

Ejemplo 46

Composiciones farmacéuticas que comprenden olesoxime

En el documento US2010099652A1 se describen ejemplos de composiciones que comprenden olesoxime. Olesoxime es estable en estado sólido (>36 meses a 25 °C/60 % de humedad relativa), no presentando cambios en el perfil de pureza en condiciones de agresión aceleradas y a largo plazo. Olesoxime tiene una baja solubilidad acuosa (menos de 5 µg/ml) en todo el intervalo de pH fisiológico. Es libremente soluble o soluble en una gama de disolventes no acuosos.

Para proporcionar una formulación apropiada para la edad para un amplio intervalo de edades, se ha desarrollado una composición líquida oral. Se ha descubierto que se puede lograr una composición farmacéutica en particular beneficiosa preparando una suspensión oral o gástrica de olesoxime en polvo en aceite de sésamo debido a su rendimiento de estabilidad superior. La solubilidad de olesoxime en aceite de sésamo (aproximadamente 35 mg/ml) es insuficiente para posibilitar la preparación de una solución mientras se limitan las cantidades de aceite absorbido por el sujeto. La palatabilidad (sabor, olor y textura) es aceptable sin excipientes adicionales.

Se suspendieron 7,5 g de olesoxime en polvo cristalino (distribución de tamaño de partícula con valor d90 de 70-90 µm) en 75 ml (61,6 g) de aceite de sésamo (refinado) como vehículo a través de agitación (por ejemplo, sacudir) para proporcionar una suspensión homogénea (concentración de olesoxime final de 100 mg/ml). Se ha descubierto que dicha suspensión oral es estable durante al menos 3 meses a 25 °C/60 % de humedad relativa con respecto a degradación, aspecto, color, uniformidad del contenido y límites microbianos.

Ejemplo 45 (de acuerdo con la invención)

Soluciones orales que comprenden 7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona

7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona, el compuesto del ejemplo 20, se puede formular como una solución acuosa oral disolviendo la sustancia farmacéutica en un sistema tampón a pH de menos de pH 4, en particular, pH 3,4, para proporcionar una concentración de fármaco suficientemente alta, por ejemplo, tampón cítrico, tampón malato, maleato o tartrato, más en particular, tampón malato o tartrato, lo más en particular, tampón tartrato.

Estabilidad a largo plazo de formulaciones del compuesto del ejemplo 20 preparando un polvo seco o granulación para la constitución de una solución oral. El sistema tampón se puede incorporar a la formulación seca por la selección de ácido orgánico y sales del mismo como polvos cristalinos finos, por ejemplo, citrato de sodio tribásico dihidrato y ácido cítrico anhidro, malato de sodio y ácido málico, o preferentemente, tartrato de sodio y potasio y ácido tartárico.

Los polvos o gránulos que comprenden el compuesto del ejemplo 20 pueden comprender un relleno extragranular, tal como sorbitol, isomalt o manitol, y combinaciones de los mismos, que garanticen una rápida disolución de la mezcla en polvo durante la constitución de la solución oral. Al introducir un diluyente, la mezcla en polvo se puede granular por compactación en seco para mejorar la fluidez y para garantizar una buena uniformidad.

Los ingredientes para la constitución de un sistema de disolvente para el compuesto del ejemplo 20 se pueden formular como una formulación separada. El disolvente constituido se puede usar para la disolución del compuesto del ejemplo 20 en un frasco al comienzo del período de uso de la solución oral.

La solución oral constituida del compuesto del ejemplo 20 en un tampón puede proporcionar tiempos de uso de más de 2 semanas por el uso de estabilizadores y antioxidantes, tales como vitamina E TPGS, edetato disódico, butilhidroxiltoluol, riboflavina o, preferentemente, ácido ascórbico, y en combinaciones de los mismos.

La tabla 6 proporciona una serie de soluciones orales que proporcionan estabilidad en solución de más de 2 semanas.

Ingredientes	Composición 1A 0,1 mg/ml (mg)	Composición 1B 1,0 mg/ml (mg)	Composición 1C 3,0 mg/ml (mg)	Composición 1D 1,0 mg/ml (mg)
7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-met	20,0	200,0	600,0	200

ilimidazo[1,2-b]piridac in-6-il)pirido[1,2-a]piri midin-4-ona				
ácido cítrico anhidro	1077,2	1077,2	1921,2	--
citrato de sodio dihidrato	115,6	115,6	0,0	--
Ácido tartárico anhidro	--	--	--	1274,0
Tartrato de sodio y potasio x4H ₂ O	--	--	--	347,6
ácido ascórbico	70,5	70,5	211,5	70,5
edetato disódico	33,6	33,6	100,8	33,6
agua para inyectables	hasta 200,0 ml	hasta 200,0 ml	hasta 200,0 ml	hasta 200,0 ml

Tabla 6. Soluciones orales de 7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona concentraciones de 0,1 mg/ml, 1,0 mg/ml y 3,0 mg/ml.

Ejemplo 46 (de acuerdo con la invención)

Mezclas en polvo como vehículos para la constitución de soluciones orales de 7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona

La tabla 7 representa una mezcla en polvo granulado para la constitución de un disolvente que es adecuado para disolver 7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona, y para obtener una solución oral a pH 3,5 que es estable durante más de 2 semanas. La combinación contiene polietilenglicol 6000 como lubricante soluble en agua, benzoato de sodio como conservante, sucralosa como edulcorante y sabor a fresa con el propósito de mejorar el sabor, en particular para su uso en pacientes pediátricos.

Las composiciones de la tabla 7 conjuntamente con 80 ml de agua proporcionan disolventes de constitución adecuados para la disolución de 7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona (80 mg, 240 mg y 400 mg respectivamente).

Destinado a la concentración de 7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona en solución:	Composición 2A 1 mg/ml (mg)	Composición 2B 3 mg/ml (mg)	Composición 2C 5 mg/ml (mg)
intragranular:			
Manitol	1.525,78	1.554,58	1.566,58
Ácido tartárico	148,00	180,00	194,00
Tartrato de sodio y potasio *4H ₂ O	173,60	112,80	86,80
Benzoato de sodio micronizado	80,00	80,00	80,00
Polvo fino de ácido ascórbico	28,18	28,18	28,18
Edetato disódico	13,44	13,44	13,44
PEG 6000	25,00	25,00	25,00
Sucralosa	16,00	16,00	16,00
Intragranular total:	2.010,0	2.010,0	2.010,0
extragranular:			
Manitol 160C	250,00	250,00	250,00
Sabor a fresa	240,00	240,00	240,00
Total:	2.500,0	2.500,0	2.500,0

Tabla 7. Mezcla en polvo de un vehículo para la constitución de una solución oral de 7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona a pH 3,4 con concentraciones de IFA de 1,0, 3,0 y 5,0 mg/ml.

Ejemplo 47 (de acuerdo con la invención)

Mezclas en polvo que comprenden 7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona para la constitución de soluciones orales

La tabla 8 representa soluciones orales que comprenden 7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona que se han

constituido por el uso de una solución vehículo constituida a partir del ejemplo 46 para la disolución del compuesto activo. El vehículo es adecuado para la constitución de una solución oral a pH 3,4 que es estable durante más de 2 semanas. Las composiciones de la tabla 8 conjuntamente con 80 ml de agua proporcionan soluciones orales que comprenden 1 mg/ml, 3 mg/ml resp. 5 mg/ml de 7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona.

	Composición 2A 1 mg/ml (mg)	Composición 2B 3 mg/ml (mg)	Composición 2C 5 mg/ml (mg)
7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona	80	240	400
Manitol	1.525,78	1.554,58	1.566,58
Ácido tartárico	148,00	180,00	194,00
Tartrato de sodio y potasio *4H ₂ O	173,60	112,80	86,80
Benzoato de sodio micronizado	80,00	80,00	80,00
Polvo fino de ácido ascórbico	28,18	28,18	28,18
Edetato disódico	13,44	13,44	13,44
PEG 6000	25,00	25,00	25,00
Sucralosa	16,00	16,00	16,00
Manitol 160C	250,00	250,00	250,00
Sabor a fresa	240,00	240,00	240,00
Agua	hasta 80 ml	hasta 80 ml	hasta 80 ml
Total:	80 ml	80 ml	80 ml

Tabla 8. Constitución de solución oral de una solución oral que comprende 7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona a pH 3,5 con concentraciones de IFA de 1,0, 3,0 y 5,0 mg/ml.

Ejemplo 48 (de acuerdo con la invención)

Mezclas en polvo de 7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona para la constitución de soluciones orales

La tabla 9 proporciona mezclas en polvo que comprenden 7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona que se pueden usar para constituir soluciones orales conjuntamente con 90 ml de agua. Las composiciones de la tabla 9 también se pueden constituir a partir de disolvente preparado a partir de una mezcla en polvo de vehículo (de forma similar al ejemplo 46) seguido de disolución de IFA.

	Composición 3A (mg)	Composición 3B (mg)
7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona	90,0	90,0
Manitol	1200,0	1200,0
Maltodextrina	--	450,0
Lactosa	450,0	--
D-L ácido tartárico	573,3	573,3
Tartrato disódico dihidrato	156,4	156,4
Ácido ascórbico	31,7	31,7
Edetato disódico * 4H ₂ O	15,1	15,1
Sucralosa	18,0	--
Sacarina de sodio	--	18,0
Benzoato de sodio	90,0	--
Ácido sórbico	--	90,0
PEG 6000	18,0	--
Sabor a fresa	180,0	--
Sabor a vainilla	--	180,0
Total por frasco (mg):	2822,5	2804,5

Tabla 9. Soluciones orales de 7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona a una concentración de 1,0 mg/ml en un frasco que contiene 90 ml.

Ejemplo 49 (de acuerdo con la invención)

5 **Mezclas en polvo de 7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona para la constitución de soluciones orales**

10 La tabla 10 proporciona mezclas en polvo que comprenden 7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona que se pueden usar para constituir soluciones orales conjuntamente con 80ml de agua. Las composiciones de la tabla 10 también se pueden constituir a partir de disolvente preparado a partir de una mezcla en polvo de vehículo (de forma similar al ejemplo 46) seguido de disolución de IFA.

	Cantidad por frasco (mg)	porcentaje de sólidos (%)
intragranular:		
7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-metilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona	80,00	3,20
Manitol (Parteck M100)	1445,94	57,84
D-L ácido tartárico	147,68	5,91
Tartrato de sodio y potasio	173,76	6,95
Benzoato de sodio	80,00	3,20
Ácido ascórbico	28,18	1,13
Edetato disódico	13,44	0,54
Sucralosa	16,00	0,64
PEG 6000	25,00	1,00
Seco total:	2010,00	80,40
extragranular:		
Sabor a fresa PHS-180152	240,00	10,00
Manitol 160C	250,00	9,60
Total por frasco (mg):	2500,00	100,00

15 Tabla 10. Mezcla en polvo para la preparación de una solución oral de 7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona a una concentración de 1 mg/ml en un frasco que contiene 80 ml de agua.

20 **Ejemplo 50** (de acuerdo con la invención)

25 **Estabilidad de las soluciones orales de 7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona**

La tabla 11 proporciona una comparación de las estabildades de diversas soluciones de 7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona, expresadas como pureza de IFA en porcentaje. Se ha descubierto que el IFA es estable en todas las soluciones orales investigadas sin una degradación notable durante varias semanas a temperatura ambiente así como a 5 °C.

30 La composición 1A del ejemplo 45 comprende 0,1 mg/ml de IFA en un sistema tampón citrato conjuntamente con ácido ascórbico como antioxidante y edetato disódico como estabilizador.

La composición 2A del ejemplo 46 se constituyó con 200 ml de agua para disolver 200 mg de IFA (1 mg/ml).

35 Las composiciones 3A y 3B del ejemplo 48 se constituyeron a partir de una mezcla en polvo de IFA conjuntamente con 90 ml de agua (1 mg/ml).

Composición	Pureza de 7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona (%)			
	inicial	después de 7 días a 25 °C	después de 17 días a 5 °C	después de 17 días a 25 °C
1A	99,29	99,17	99,26	--
2A	99,33	99,23	99,29	--
3A	99,32	99,20	99,29	--
3A	99,34	--	--	99,28
3B	99,33	--	--	99,21

Tabla 11. Estabilidad de la solución de diversas composiciones almacenadas a 5 °C o 25 °C en frascos de vidrio ámbar.

5 Ejemplo 51

Emulsiones de agua en aceite que comprenden

7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona y olesoxime

10 Para una dosificación combinada del compuesto del ejemplo 20 conjuntamente con olesoxime con una única composición, las soluciones orales acuosas del compuesto del ejemplo 20 se pueden combinar con una solución oleosa de olesoxime por la constitución de una suspensión oral. Se puede transferir una solución oleosa de olesoxime (como, por ejemplo, en el ejemplo 46) a un frasco que contiene la solución constituida del compuesto del ejemplo 20 y posteriormente se puede formar una emulsión agitando manualmente los frascos cerrados durante 15 5-20 veces, preferentemente, 10 veces. La solución oleosa de olesoxime es una solución en aceite de sésamo que puede contener agentes emulsionantes y/o solubilizantes lipófilos tales como monooleato de glicerilo (Peceol™, Inwitor 948™, Capmul GMO™), monolinoleato de glicerilo (Maisine 35-1™), monooleato de sorbitán (Span 80™) o ácido oleico, para incrementar la solubilidad de olesoxime en el disolvente oleoso y para posibilitar la formación de una emulsión a partir de la solución oleosa cuando se combine con las soluciones del compuesto del ejemplo 20. 20 Los emulsionantes y agentes solubilizantes que se dispersan en el disolvente oleoso, opcionalmente antes de la disolución de olesoxime con la aplicación de calor, se pueden combinar con tensioactivos más polares con un valor HLB de menos de 7, por ejemplo, polisorbato 80 (Tween 80™), polioxilglicéridos de caprilcaproilo (Labrasol™) para proporcionar una emulsión de mayor dispersabilidad y estabilidad física más prolongada después de la constitución. La emulsión puede tener la fase acuosa o bien la fase oleosa como fase interna dispersada 25 dependiendo de la proporción seleccionada entre el tensioactivo lipófilo con bajo HLB y el tensioactivo más hidrófilo con alto valor de HLB.

30 La tabla 12 proporciona 2 ejemplos de un vehículo oleoso que es adecuado para la formación de una emulsión de agua en aceite, que comprende 7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona en la fase acuosa y olesoxime en la fase lipídica.

Ingredientes	Composición 4A (%)	Composición 4F (%)
Aceite de sésamo	90,0	90,0
Monooleato de sorbitán	7,0	
Peceol™ (monooleato de glicerilo)		6,1
Polisorbato 80	3,0	
Labrasol™ (polioxilglicéridos de caprilcaproilo)		3,9

35 Tabla 12: Vehículos oleosos para que olesoxime constituya una emulsión de agua en aceite con una solución oral de 7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona.

40 Con las composiciones 4A y 4F se pudo dispersar como emulsión hasta un 30 % (p/p) de solución tampón tartrato acuosa de pH 3,3 después de agitar 10 veces. Las emulsiones fueron visualmente homogéneas durante al menos 15 minutos.

La tabla 3 (composición 5A) representa una solución usada para preparar una solución acuosa de 7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona.

Composición 5A	
Ingredientes:	mg
Ácido tartárico	184,6
Tartrato de sodio y potasio x4H ₂ O	217,2
Ácido ascórbico	35,23
Edetato disódico anhidro	16,81
Agua purificada	Hasta 100 ml

45

Tabla 13: Disolvente acuoso para 7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona.

5 La figura 6 proporciona fotografías de la composición 4A antes de (A) e inmediatamente después de la adición de un 20 % (B) o un 30 % (C) de solución tampón de tartrato (composición 5A) y, de este modo, de las emulsiones de agua en aceite resultantes.

10 La figura 7 proporciona fotografías de emulsiones de agua en aceite que comprenden un 70 % de la composición 4A y un 30 % de la composición 5A 15 minutos después de la constitución (A) (10 veces agitación) y 30 min después de la constitución (B) (10 veces agitación).

15 La figura 8 proporciona fotografías de la composición 4F antes de (A) e inmediatamente después de la adición de un 20 % (B izquierda), un 25 % (B al medio) o un 30 % (B derecha) de solución tampón tartrato (composición 5A) y, de este modo, de las emulsiones de agua en aceite resultantes.

La figura 9 proporciona fotografías de emulsiones de agua en aceite que comprenden un 70 % de la composición 4F y un 30 % de la composición 5A 15 minutos después de la constitución (A) (10 veces agitación) y 30 min después de la constitución (B) (10 veces agitación).

20 Todas las emulsiones preparadas fueron estables durante al menos 30 minutos.

Ejemplo 52

25 **Soluciones oleosas que comprenden 7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona y olesoxime**

30 De forma alternativa a las emulsiones, se pueden preparar coformulaciones del compuesto del ejemplo 20 y olesoxime disolviendo ambas sustancias farmacéuticas en un disolvente oleoso que contiene aceite de sésamo y tensioactivos lipófilos, tales como monooleato de glicerilo (Peceol™, Inwitor 948™, Capmul GMO™), monolinoleato de glicerilo (Maisine 35-1™), monooleato de sorbitán (Span 80™) o ácido oleico, para posibilitar una solubilidad mejorada en el disolvente.

35 La tabla 14 proporciona un sistema de disolvente oleoso que proporciona una solubilidad incrementada para ambos fármacos y da lugar a una estabilidad suficiente durante un tiempo de uso después de la constitución como se muestra en la tabla 15.

Ingredientes	Composición 6A	Composición 6B
7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona	10,0 mg	10,0 mg
Olesoxime	100,0 mg	100,0 mg
Butilhidroxanisol	18,9 mg (0,02 % p/p)	--
Vitamina E	--	236,25 mg (0,25 % p/p)
Ácido oleico	9,45 g (10 % p/p)	9,45 g (10 % p/p)
Monolinoleato de glicerilo Maisine™	hasta 100,0 ml	hasta 100,0 ml

40 Tabla 14. Solución oleosa de 100 mg/ml de olesoxime y 10 mg/ml de 7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona.

Composición	Contenido de 7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona (%)			
	inicial	después de 1 día a temperatura ambiente	después de 7 días a 4 °C	después de 7 días a temperatura ambiente

6A	99,5	97,0	99,0	96,5
6B	99,5	95,4	98,7	96,3
Contenido de olesoxime (%)				
6A	98	98	98	98
6B	98	98	98	97

Tabla 15. Estabilidad de las composiciones de solución oleosa 6A y 6B.

Ejemplo 53

5

Mezclas en polvo de vehículos y estabilidad de las soluciones orales constituidas a partir de las mismas

La tabla 16 proporciona mezclas en polvo granulado seco de vehículos adecuados para la constitución de soluciones orales que comprenden 7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona (por ejemplo, 0,25 o 1,5 mg/ml) a pH 3,4.

10

15

En estas composiciones se ha usado la cantidad exacta de ácido tartárico necesaria para alcanzar el pH objetivo en lugar de un tampón que consiste en el ácido y la sal correspondiente. Se pudo demostrar la estabilidad en uso de la solución durante al menos 17 días, como se puede observar en la tabla 17.

Ingredientes	Composición 7a	Composición 7b
	(vehículo para 0,25 mg/ml;	(vehículo para 1,5 mg/ml;
	mg por frasco	
Manitol	2019,93	1948,63
Ácido tartárico	92,00	163,30
Benzoato de sodio	64,00	64,00
Ácido ascórbico	28,18	28,18
Polietilenglicol 6000	25,00	25,00
edetato disódico	14,89	14,89
sucralosa	16,00	16,00
Sabor a fresa	240,00	240,00
total por frasco (mg)	2500,0	2500,0

Tabla 16. Mezclas en polvo granulado seco de vehículos para la constitución.

días	Composición de vehículo	5 °C		25 °C	
		Contenido de IFA [mg/ml]	Pureza de IFA [%]	Contenido de IFA [mg/ml]	Pureza de IFA [%]
0	7a	0,24	99,56	0,24	99,56
10		0,24	99,57	0,24	99,55
17		0,24	99,60	0,24	99,50
0	7b	1,42	99,56	1,43	99,54
10		1,45	99,57	1,43	99,56
17		1,45	99,50	1,45	99,50

20

Tabla 17. Estabilidades de soluciones orales que comprenden aproximadamente 0,25 mg/ml o aproximadamente 1,5 mg/ml de 7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona (indicada como IFA en la tabla) en solución de vehículo de la composición 7a o 7b constituida con 80 ml de agua para inyectables.

25

Ejemplo 54

Mezclas en polvo de 7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona y estabilidad de las soluciones orales constituidas a partir de las mismas

Las mezclas en polvo granulado seco de la composición 8a, 8b, 8c y 8d de la tabla 18 ya incluyen el IFA para simplificar el procedimiento de constitución para la solución. Las composiciones 8a a 8d presentan un peso de relleno de polvo reducido y contienen isomalt como segundo diluyente para mejorar las propiedades del gránulo. Se pudo demostrar una excelente estabilidad durante hasta un mes en solución con ambas (agua para inyectables y agua potable), como se puede observar en la tabla 19.

Ingredientes	Composición 8a	Composición 8b	Composición 8c	Composición 8d
	mg por frasco			
7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona	20,0	60,0	20	20
Manitol	514,2	474,25	364,19	1373,99
Isomalt	90,7	83,7	64,27	242,47
Polvo fino de ácido tartárico	92,0	120,5	92,00	92,00
Benzoato de sodio micronizado	64,0	64,0	64,00	64,00
Polvo fino de ácido ascórbico	28,2	14,1	14,09	14,09
Sucralosa	16,0	16,0	16,00	16,00
Edetato disódico *2H ₂ O	14,9	7,45	7,45	7,45
PEG 6000	10,0	10,0	8,00	8,00
Sabor a fresa	150,0	150,0	150	150
total	1000,0	1000,0	800,0	2000,0

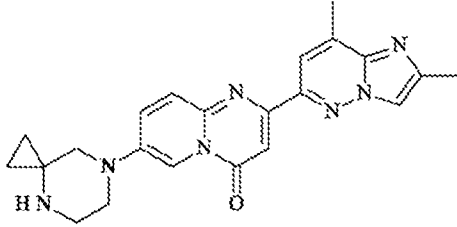
Tabla 18. Mezclas en polvo granulado seco para la constitución de soluciones orales de 7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona (0,25 mg/ml o 0,75 mg/ml) constituidas con 80 ml de agua para inyectables a pH 3,4.

Días de almacenamiento a 5 °C	Composición 8a			
	con agua para inyectables		con agua potable	
	Contenido de IFA [% CL]	Pureza de IFA [%]	Contenido de IFA [% CL]	Pureza de IFA [%]
0	96,0	99,9	96,0	99,9
17	96,0	99,8	96,0	99,9
25	96,0	99,8	92,0	99,9
31	92,0	99,9	92,0	99,9

Tabla 19. Estabilidades de soluciones orales que comprenden aproximadamente 0,25 mg/ml de 7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona (indicada como IFA en la tabla) en solución de vehículo de la composición 8a constituida con 80 ml de agua para inyectables (es decir, agua bidestilada sin electrolitos) o con agua potable (que comprende electrolitos).

REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica que comprende 7-(4,7-diazaespiro[2.5]octan-7-il)-2-(2,8-dimetilimidazo[1,2-b]piridacin-6-il)pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona



5 o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma; en la que la composición es una solución acuosa oral o un polvo seco adecuado para la constitución de una solución acuosa oral, en la que la solución acuosa oral tiene un pH de menos de pH 4.

10 2. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la composición farmacéutica comprende además un sistema tampón citrato, malato, maleato o tartrato; o, de forma alternativa, ácido tartárico.

15 3. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, en la que la composición comprende además un relleno extragranular seleccionado de lactosa, almidón, almidón hidrolizado, maltodextrina, celulosa microcristalina, manitol, sorbitol, sacarosa, dextrosa, fosfato de calcio dibásico, sulfato de calcio y combinaciones de los mismos.

20 4. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que la composición comprende además un diluyente seleccionado de lactosa, almidón, almidón hidrolizado, celulosa microcristalina, manitol, sorbitol, sacarosa, dextrosa, fosfato de calcio dibásico, sulfato de calcio y combinaciones de los mismos.

25 5. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que la composición comprende además un conservante seleccionado de ácido sórbico y benzoato de sodio.

6. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que la composición comprende además un antioxidante seleccionado de ácido ascórbico.

30 7. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en la que la composición comprende además un estabilizador seleccionado de etilendiamintetraacetato disódico.

8. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en la que la composición comprende además un lubricante seleccionado de poli(etilenglicol).

35 9. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en la que la composición es una solución acuosa oral.

40 10. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en la que la composición es un polvo seco adecuado para la constitución de una solución acuosa oral.

11. Un kit para la preparación de composiciones farmacéuticas que comprende el polvo seco de la reivindicación 10 y agua como disolvente para la constitución.

45 12. Una composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 para su uso en el tratamiento, prevención, retraso de la progresión y/o mejora de la atrofia muscular espinal.

Figura I.

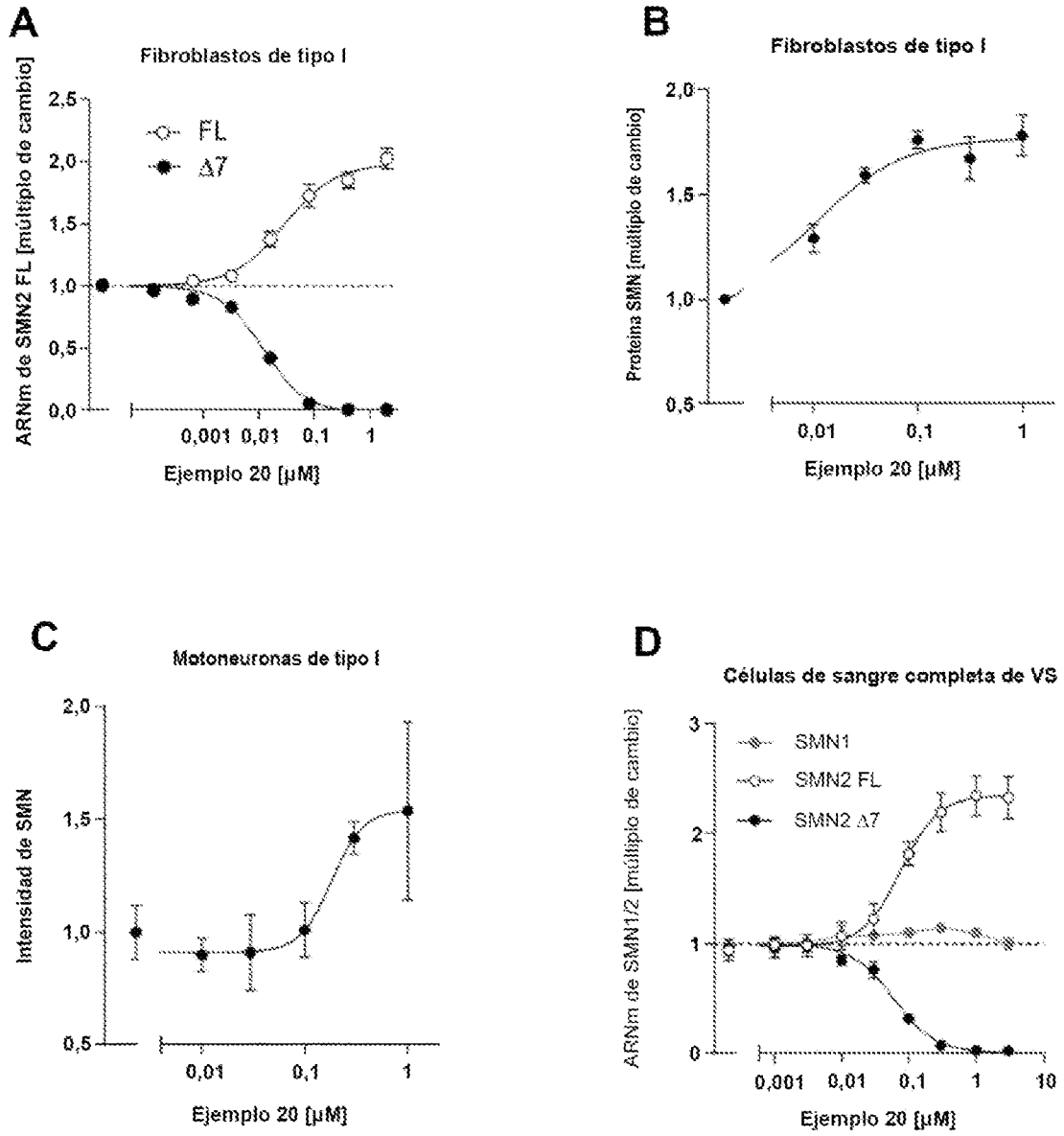


Figura 2.

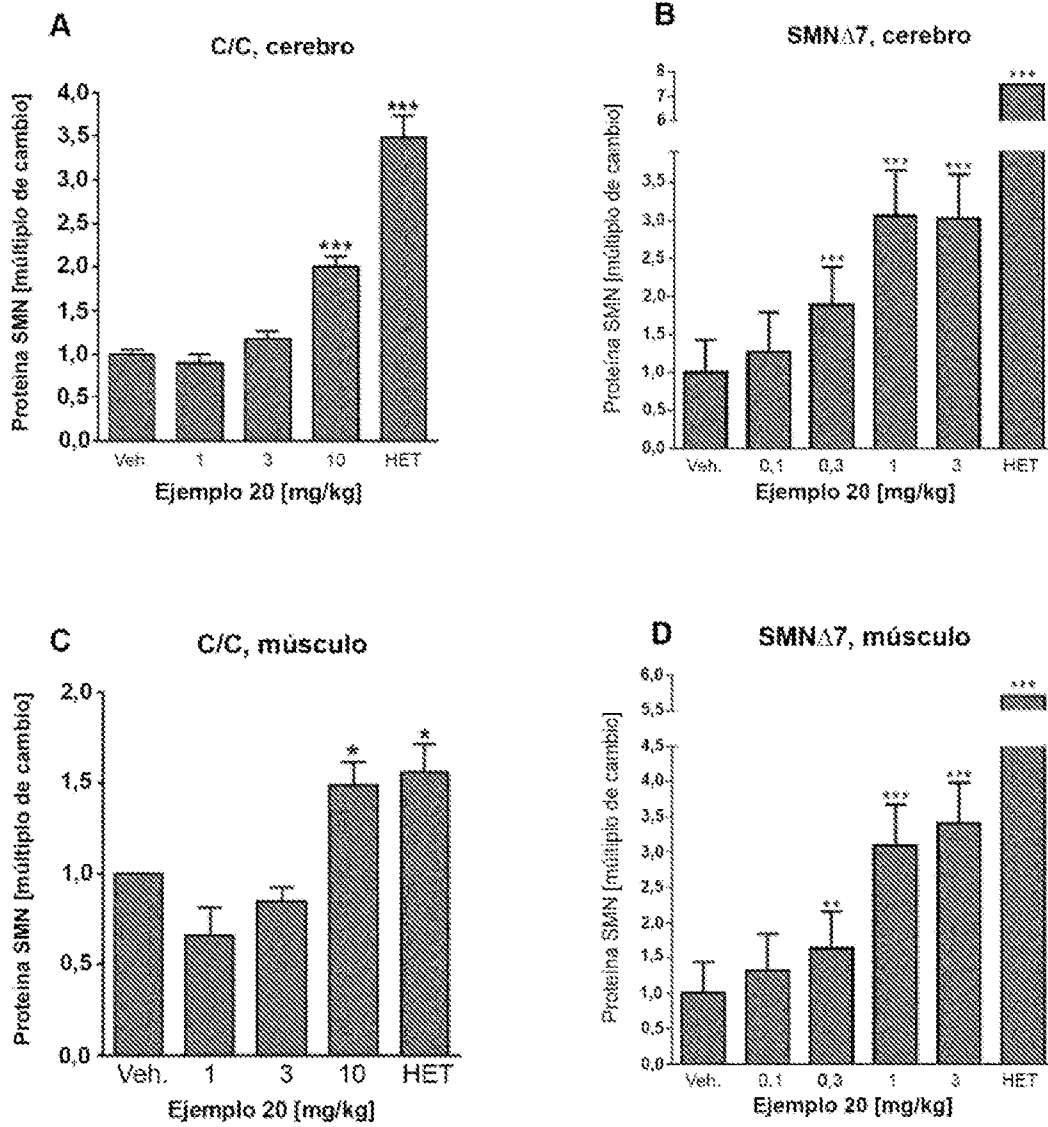


Figura 3.

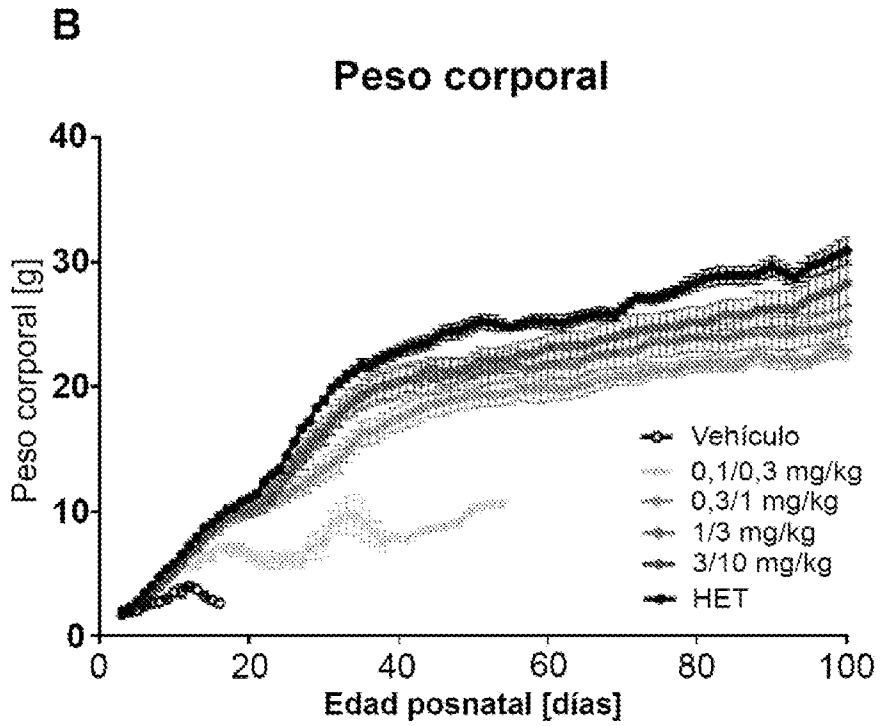
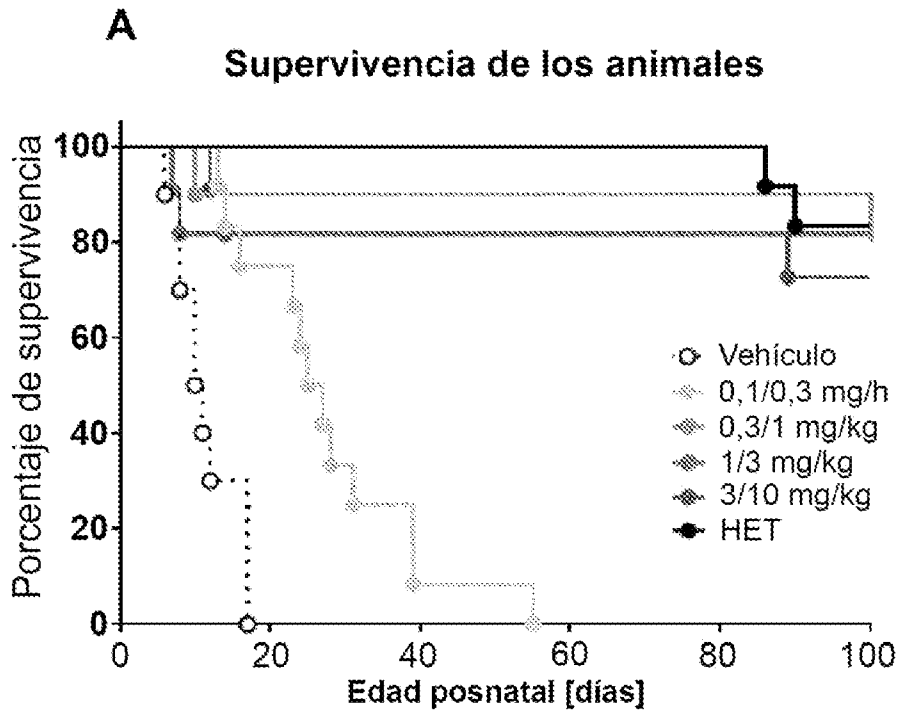


Figura 4.

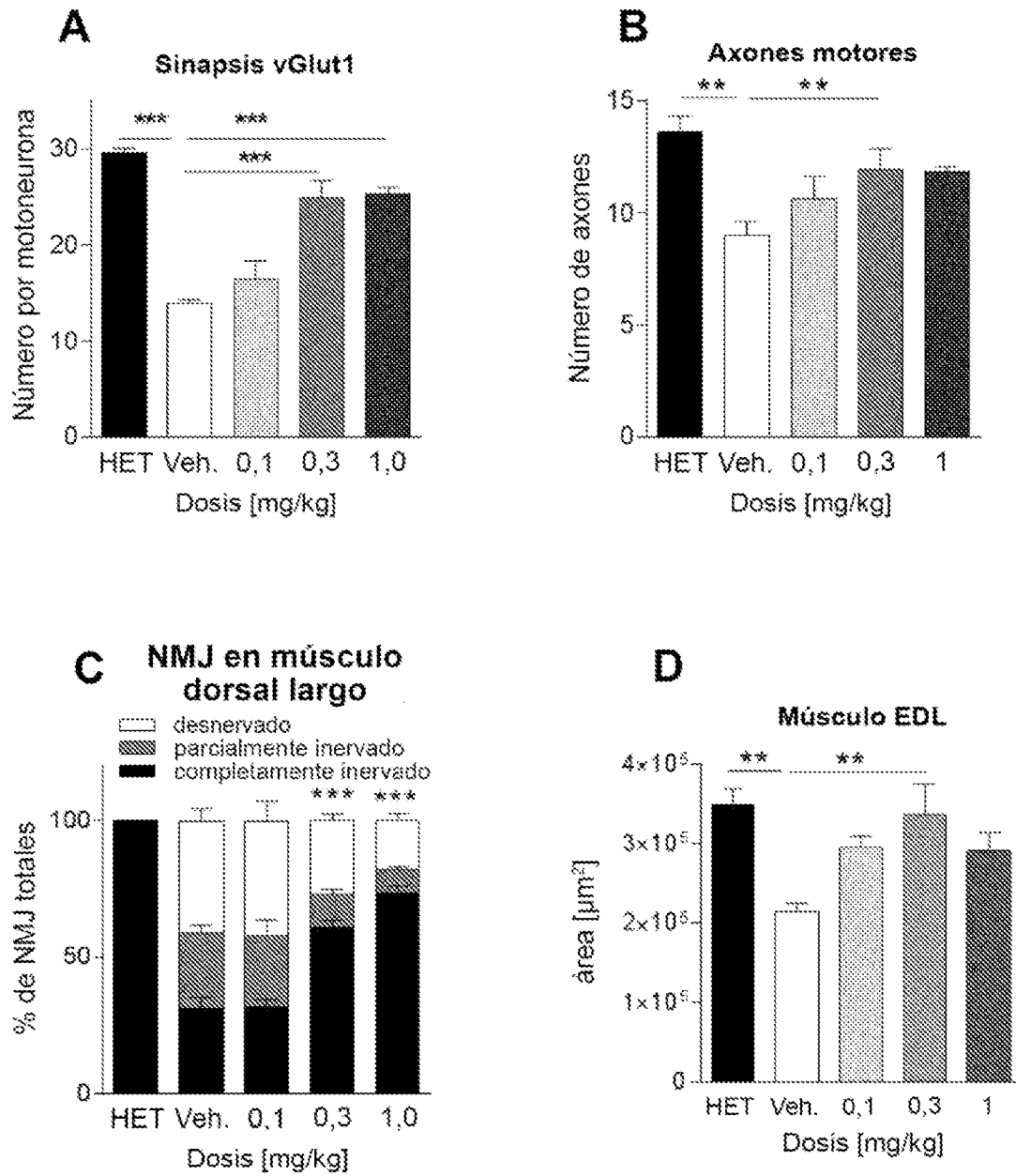


Figura 5.

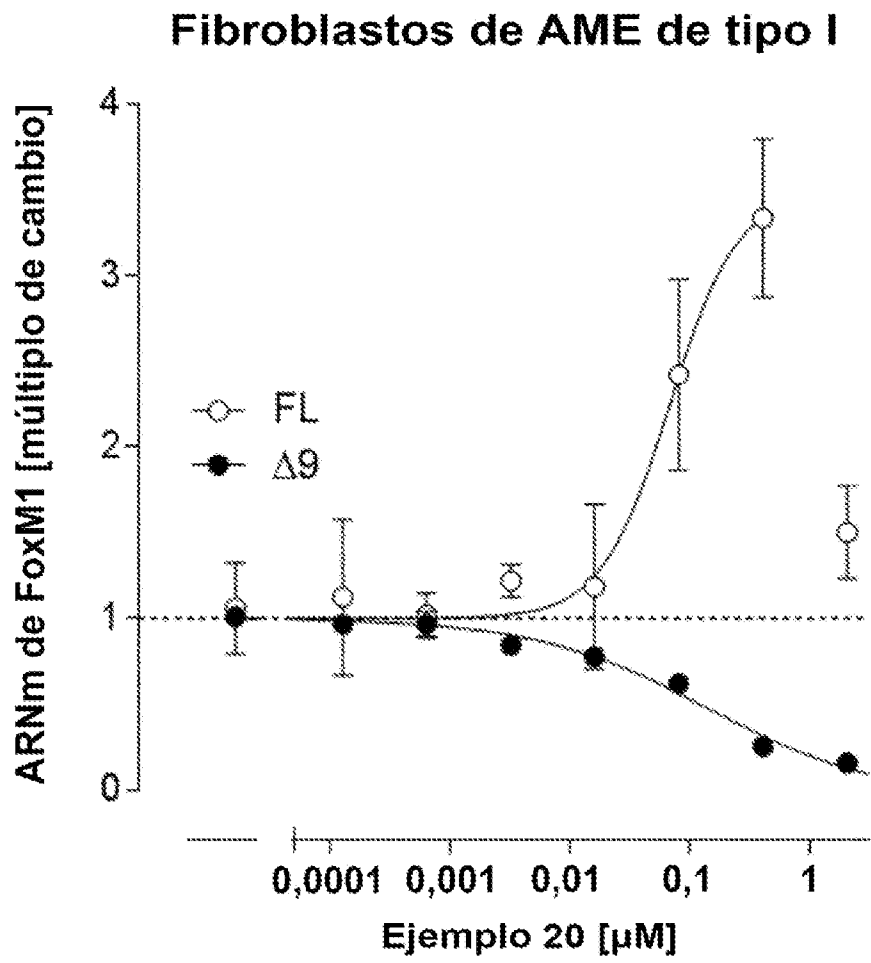


Figura 6.

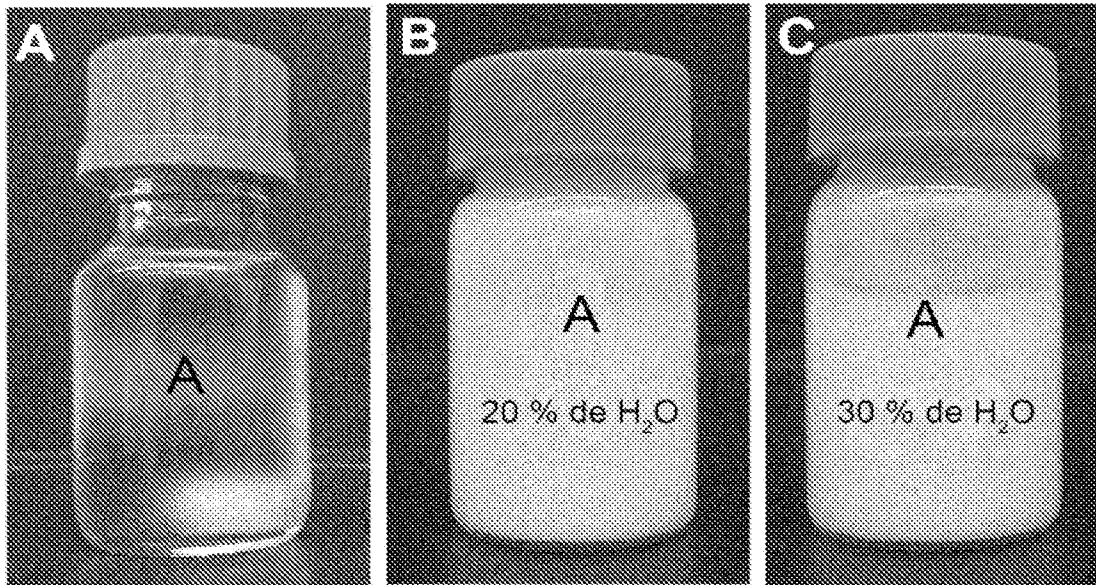


Figura 7.

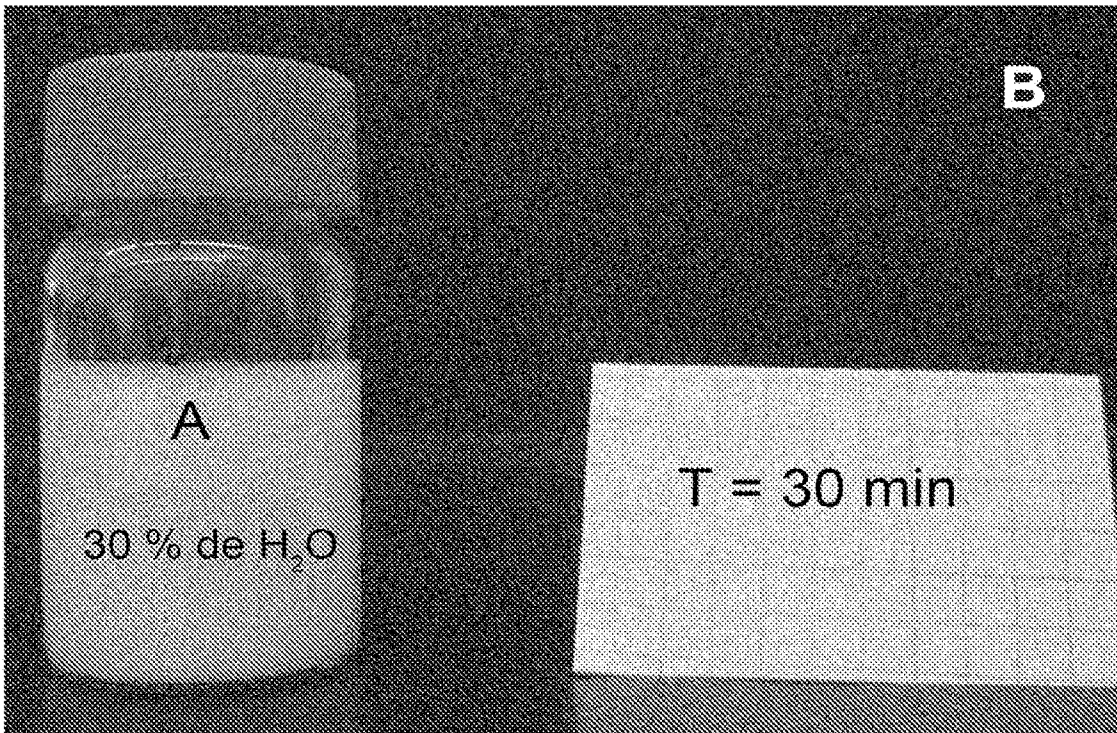
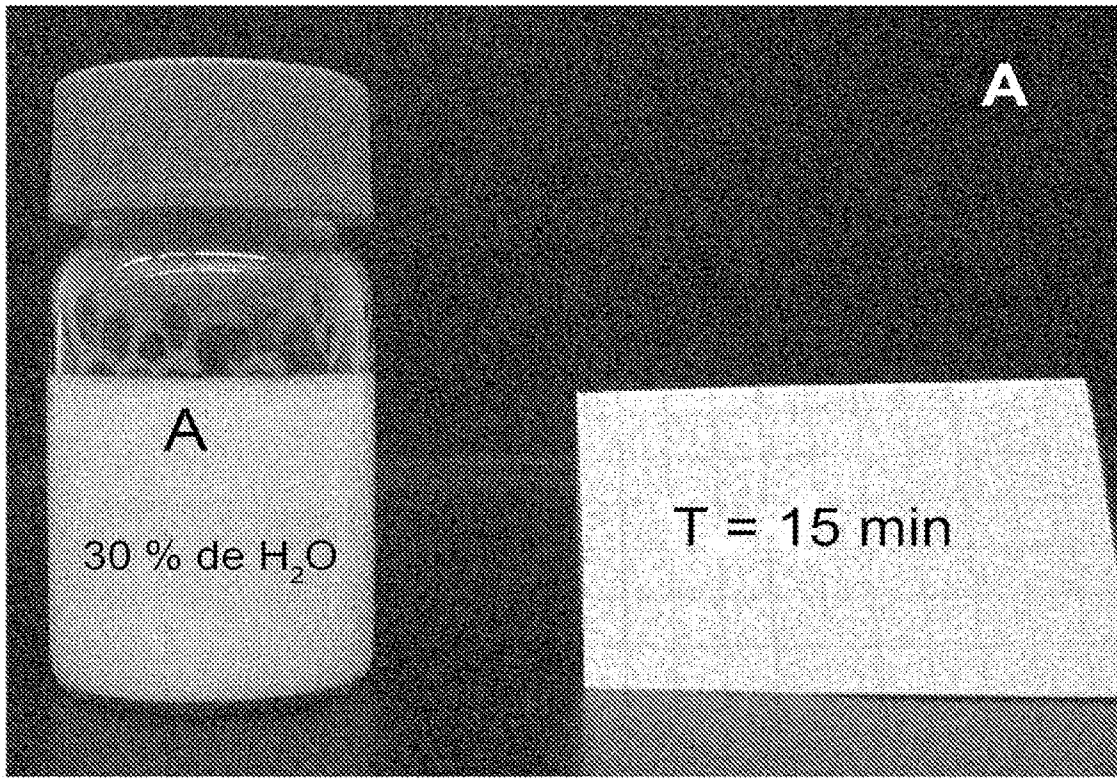


Figura 8.

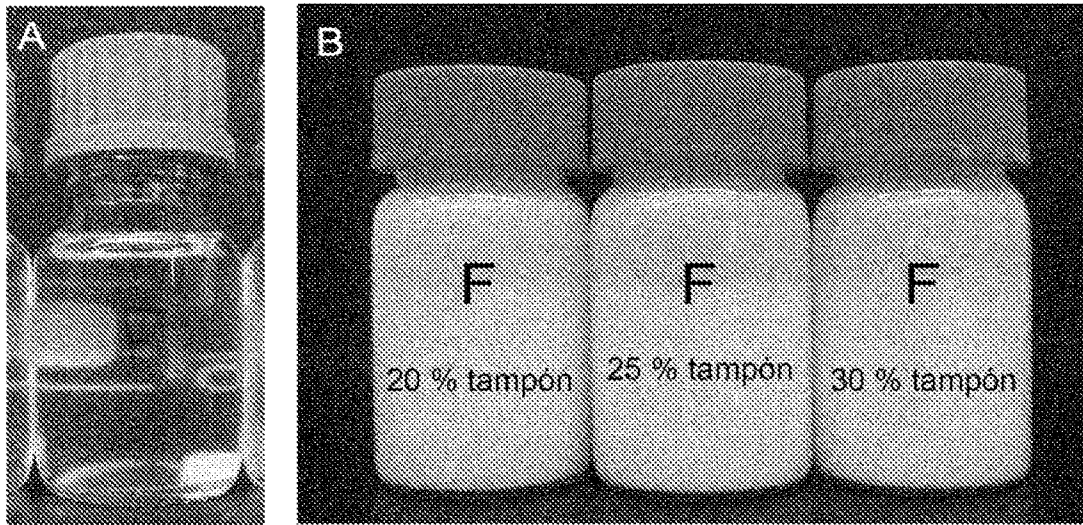


Figura 9.

