

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 569 352**

51 Int. Cl.:

C07D 217/24 (2006.01)

C07D 403/12 (2006.01)

A61K 31/472 (2006.01)

A61K 31/4725 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

C07D 409/12 (2006.01)

C07D 401/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.03.2007 E 07753368 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.03.2016 EP 1933622**

54 Título: **Compuestos de bicicloheteroarilo como moduladores de P2X₇ y usos de los mismos**

30 Prioridad:

16.03.2006 US 783121 P

16.03.2006 US 782923 P

16.03.2006 US 783590 P

17.07.2006 US 831416 P

09.03.2007 US 906049 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
10.05.2016

73 Titular/es:

SECOND GENOME, INC. (100.0%)
341 Allerton Avenue
South San Francisco, CA 94080, US

72 Inventor/es:

KELLY, MICHAEL G.;
KINCAID, JOHN;
FANG, YUNFENG;
CAO, YEYU;
KAUB, CARL;
GOWLUGARI, SUMITHRA y
WANG, ZHAN

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 569 352 T3

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

DESCRIPCIÓN

Compuestos de bicicloheteroarilo como moduladores de P2X₇ y usos de los mismos

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a nuevos compuestos de la clase de los bicicloheteroarilos que son capaces de modular la actividad del receptor P2X₇ y a composiciones farmacéuticas que contienen dichos compuestos. La presente invención también se refiere a procedimientos para la prevención y/o el tratamiento de afecciones que están relacionadas causalmente con la actividad P2X₇ aberrante, tales como las afecciones relacionadas con la inflamación en mamíferos, que comprenden (pero se limitan a) la artritis reumatoide, la osteoartritis, la enfermedad de Parkinson, la uveítis, el asma, afecciones cardiovasculares incluyendo el infarto de miocardio, el tratamiento y la profilaxis de los síndromes dolorosos (agudos y crónicos o neuropáticos), la lesión cerebral traumática, la lesión medular aguda, los trastornos neurodegenerativos, la enfermedad inflamatoria intestinal y los trastornos autoinmunes, usando los compuestos y composiciones farmacéuticas de la invención.

Antecedentes de la invención

15 Los receptores de la superficie celular para el ATP pueden dividirse en las clases metabotrópica (P2Y/P2U) y ionotrópica (P2X). La clase metabotrópica pertenece a la superfamilia de los receptores acoplados a proteínas G, con siete segmentos transmembrana. Los miembros de la clase ionotrópica (P2X₁-P2X₆) son canales iónicos abiertos por ligando, actualmente se cree que son proteínas de múltiples subunidades con dos dominios transmembrana por subunidad (Buell y col., *Europ. J. Neurosci.* 8:2221 (1996)). Los receptores P2Z se han distinguido de otros receptores P2 de tres formas principales (Buisman y col., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:7988 (1988); Cockcroft y col., *Nature* 279:541 (1979); Steinberg y col., *J. Biol. Chem.* 262:3118 (1987)). En primer lugar, la activación de los receptores P2Z conduce no solo a una corriente iónica hacia el interior, sino también a la permeabilización celular. En segundo lugar, el 3'-O-(4-benzoil)benzoil ATP (BZATP) es el agonista más eficaz y el propio ATP tiene una potencia relativamente baja. En tercer lugar, las respuestas son fuertemente inhibidas por los iones de magnesio extracelulares, lo que se ha interpretado que indica que el ATP⁴⁻ es el agonista activo (DiVirgilio, *Immunol. Today* 16: 524 (1995)).

Se ha aislado un séptimo miembro de la familia de receptores P2X a partir de una genoteca de ADNc de rata y, cuando se expresa en células de riñón embrionario humano (HEK293), muestra las tres propiedades anteriores (Surprenant y col., *Science* 272:735 (1996)). Este receptor (rP2X₇) corresponde por tanto al receptor P2Z. rP2X₇ está estructuralmente relacionada con otros miembros de la familia P2X pero tiene un dominio C-terminal citoplásmico más largo (existe una identidad de aminoácidos del 35-40 % en la región de homología correspondiente, pero el extremo C tiene 239 aminoácidos de largo en el receptor rP2X₇ en comparación con los 27-20 aminoácidos de otros). El receptor rP2X₇ actúa como un canal permeable a cationes pequeños y como un poro citolítico. Las aplicaciones breves de ATP (1-2 s) abren transitoriamente el canal, como es el caso de otros receptores P2X. Las aplicaciones repetidas o prolongadas del agonista provocan la permeabilización celular, reducir la concentración de magnesio extracelular potencia este efecto. El dominio C-terminal singular de rP2X₇ es necesario para la permeabilización celular y las acciones líticas del ATP. (Surprenant y col., *Science* 272:735 (1996)).

Se ha implicado al receptor P2Z/rP2X₇ en la lisis de células presentadoras de antígeno por los linfocitos T citotóxicos, en la estimulación mitogénica de linfocitos T humanos, así como en la formación de células gigantes multinucleadas (Blanchard y col., *Blood* 85:3173 (1995); Falzoni y col., *J. Clin. Invest.* 95:1207 (1995); Baricordi y col., *Blood* 87:682 (1996)). Existen ciertas diferencias funcionales entre los roedores y el hombre (Hickman y col., *Blood* 84:2452 (1994)). Se ha clonado ahora el receptor P2X₇ de macrófago humano (P2X₇) y se han determinado sus propiedades funcionales (Rassendren y col., *J. Biol. Chem.* 272:5482 (1997)). En comparación con el receptor P2X₇ de rata, las corrientes inducidas selectivas de cationes en el receptor P2X₇ humano necesitaron mayores concentraciones de agonistas, se potenciaron más por la retirada de iones de magnesio extracelular y se modificaron más rápidamente con la retirada del agonista. La expresión de moléculas quiméricas indicó que algunas de las diferencias entre los receptores P2X₇ de rata y humanos podrían modificarse mediante el intercambio de los respectivos dominios C-terminales de las proteínas receptoras.

Se ha notificado que ciertos compuestos actúan como antagonistas de P2X₇. Por ejemplo, los documentos WO99/29660 y WO99/29661 desvelan que ciertos derivados de adamantano muestran una actividad antagonista de P2X₇ que tiene eficacia terapéutica en el tratamiento de la artritis reumatoide y la psoriasis. De forma similar, el documento WO99/29686 desvela que ciertos derivados heterocíclicos son antagonistas del receptor P2X₇ y son útiles como agentes inmunosupresores y para tratar la artritis reumatoide, el asma, el choque séptico y la aterosclerosis. Por último, el documento WO00/71529 desvela ciertos compuestos de fenilo sustituidos que muestran actividad inmunosupresora. Todas las referencias que se describen en el presente documento se incorporan en el presente documento por referencia en su totalidad.

Existe por tanto una necesidad de agentes terapéuticos y de las correspondientes composiciones farmacéuticas y los procedimientos de tratamiento relacionados, que aborden las afecciones relacionadas causalmente con la actividad de P2X₇ aberrante y es hacia el cumplimiento y la satisfacción de esta necesidad, que se dirige la presente

invención.

Sumario de la invención

5 Se desvelan derivados de bicicloarilo de fórmulas I-XIII d y sus composiciones farmacéuticas como agentes terapéuticos útiles para el tratamiento de afecciones en mamíferos asociadas con la actividad anormal o aberrante del receptor P2X₇, incluyendo las afecciones mediadas por la inflamación tales como (pero no limitadas a) la artritis, el infarto de miocardio, el tratamiento y la profilaxis de los síndromes dolorosos (agudos y crónicos [neuropáticos]), la lesión cerebral traumática, la lesión medular aguda, los trastornos neurodegenerativos, la enfermedad inflamatoria intestinal y las disfunciones inmunitarias tales como los trastornos autoinmunes.

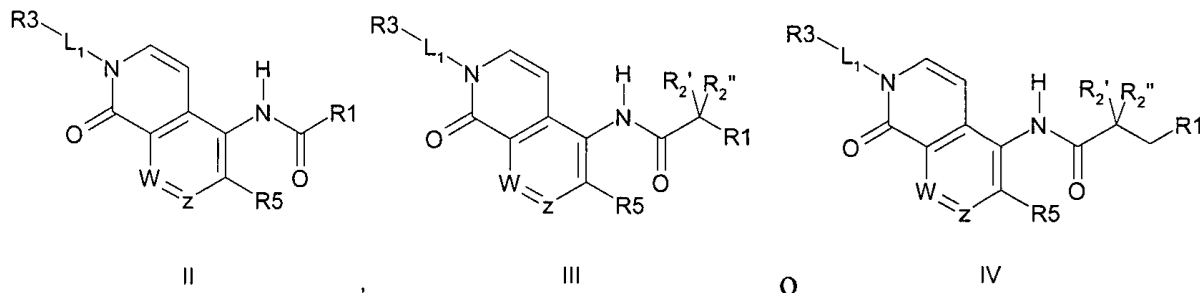
10 Se ha descubierto ahora que los presentes compuestos de bicicloheteroarilo son capaces de mediar la actividad del receptor P2X₇. Este hallazgo conduce a nuevos compuestos que tienen valor terapéutico. También conduce a composiciones farmacéuticas que tienen los compuestos de la presente invención como principios activos y a su uso para tratar, prevenir o mejorar una serie de afecciones en mamíferos tales como, pero no limitadas a la inflamación de causas o etiologías diversas, por ejemplo la artritis reumatoide, las enfermedades cardiovasculares, la enfermedad inflamatoria intestinal, el dolor agudo, crónico, inflamatorio y neuropático, el dolor dental y la cefalea (tales como la migraña, la cefalea en racimos y la cefalea tensional) y otras afecciones relacionadas causalmente con la inflamación o la disfunción inmunitaria.

20 Los compuestos de la presente invención también son útiles para el tratamiento del dolor inflamatorio y la hiperalgesia y la alodinia asociadas. También son útiles para el tratamiento del dolor neuropático y la hiperalgesia y la alodinia asociadas (por ejemplo la neuralgia herpética o del trigémino, la neuropatía diabética, la causalgia, el dolor mantenido simpáticamente y los síndromes de desafeerenciación tales como la avulsión del plexo braquial). Los compuestos de la presente invención también son útiles como agentes antiinflamatorios para el tratamiento de la artritis y como agentes para tratar la enfermedad de Parkinson, la uveítis, el asma, el infarto de miocardio, la lesión cerebral traumática, la lesión medular, los trastornos neurodegenerativos, la enfermedad inflamatoria intestinal y los trastornos autoinmunes, los trastornos renales, la obesidad, los trastornos de la alimentación, el cáncer, la esquizofrenia, la epilepsia, los trastornos del sueño, la cognición, la depresión, la ansiedad, la tensión arterial, los trastornos lipídicos y la aterosclerosis.

25 En un aspecto, la presente invención proporciona compuestos de bicicloheteroarilo que son capaces de modular la actividad del receptor P2X₇, *in vivo*. En un aspecto adicional, los compuestos de la invención son capaces de antagonizar (suprimir o inhibir) la actividad del receptor P2X₇ y, de este modo, tratar esas afecciones, las representativas de las que están relacionadas causalmente con la actividad P2X₇ aberrante.

30 Los compuestos de la presente invención pueden mostrar una baja toxicidad, una buena absorción, una buena semivida, una buena solubilidad, una baja afinidad de unión a proteínas, una baja interacción fármaco-fármaco, una baja actividad inhibitora en el canal HERG, una baja prolongación QT y una buena estabilidad metabólica.

35 En consecuencia, en un primer aspecto de la invención, se desvelan compuestos de bicicloheteroarilo que son capaces de modular la actividad del receptor P2X₇ *in vivo*, de acuerdo con la fórmula II, III o IV:



en las que

- W y Z son CH;
- L¹ es alquileo C₁-C₅ sustituido o sin sustituir;
- 40 R¹ se selecciona entre arilo y heteroarilo de 5-13 miembros sustituidos o sin sustituir;
- cada R^{2'} y R^{2''} se selecciona independientemente entre hidrógeno, halo, alquilo C₁-C₆ sustituido o sin sustituir; o cualquiera de R^{2'} y R^{2''} se unen para formar un anillo cicloalquilo o cicloheteroalquilo de 3-7 átomos;
- R³ es hidroxilo, amino, alquilamino o carbamoilo;
- 45 R⁵ es H, Me, ciclopropilo, Cl, F o CF₃;
- o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de los mismos;
- y estereoisómeros, variantes isotópicas y tautómeros de los mismos.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de bicicloheteroarilo de la invención y un vehículo, excipiente o diluyente farmacéuticos. En este aspecto de la invención, la composición farmacéutica puede comprender uno o más de los compuestos que se describen en el presente documento. Además, los compuestos de la presente invención útiles en las composiciones farmacéuticas y procedimientos de tratamiento que se desvelan en el presente documento, son todos farmacéuticamente aceptables tal como se preparan y se usan.

En un aspecto adicional de la invención, la presente invención proporciona compuestos que se describen en el presente documento para su uso como un producto farmacéutico en un procedimiento de tratamiento de un mamífero susceptible de padecer o que padece una afección de entre las que se enumeran en el presente documento y en particular, dicha afección que pueda estar asociada con por ejemplo, la inflamación, tal como la artritis reumatoide, la osteoartritis, la uveítis, el asma, el infarto de miocardio, la lesión cerebral traumática; el choque séptico, la aterosclerosis, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), la lesión medular aguda, la enfermedad inflamatoria intestinal y la disfunción inmunitaria, incluyendo los trastornos autoinmunes, procedimiento que comprende administrar una cantidad eficaz de una o más de las composiciones farmacéuticas que se acaban de describir.

En otro aspecto más del procedimiento de tratamiento, la presente invención proporciona compuestos que se describen en el presente documento para su uso en un procedimiento de tratamiento de un mamífero susceptible de padecer o que padece una afección que está relacionada causalmente con la actividad aberrante del receptor P2X₇, y que por ejemplo, da origen a respuestas dolorosas o que se relaciona con desequilibrios en el mantenimiento de la actividad basal de los nervios sensoriales. Los compuestos de amina de la invención tienen uso como analgésicos para el tratamiento del dolor de causas o etiologías diversas, por ejemplo el dolor agudo, inflamatorio (tal como el dolor asociado a la osteoartritis y a la artritis reumatoide); diversos síndromes de dolor neuropático (tal como la neuralgia postherpética, la neuralgia del trigémino, la distrofia simpática refleja, la neuropatía diabética, el síndrome de Guillian Barre, la fibromialgia, el dolor del miembro fantasma, el dolor postmastectomía, la neuropatía periférica, la neuropatía por VIH y las neuropatías inducidas por quimioterapia y otras neuropatías iatrogénicas); el dolor visceral (tal como el asociado a la enfermedad por reflujo gastroesofágico, el síndrome del intestino irritable, la enfermedad inflamatoria intestinal, la pancreatitis y diversos trastornos ginecológicos y urológicos), el dolor dental y la cefalea (tal como la migraña, la cefalea en racimos y la cefalea tensional).

En aspectos adicionales del procedimiento de tratamiento, la presente invención proporciona compuestos que se describen en el presente documento para su uso en procedimientos de tratamiento de un mamífero susceptible de padecer o que padece afecciones que están relacionadas causalmente con la actividad anormal del receptor P2X₇, tales como las enfermedades y los trastornos neurodegenerativas que incluyen, por ejemplo, la enfermedad de Parkinson, la esclerosis múltiple; enfermedades y trastornos que dan como resultado o que están mediados por neuroinflamación tales como, por ejemplo la lesión cerebral traumática y la encefalitis; enfermedades y trastornos neuropsiquiátricos de origen central tales como, por ejemplo, la manía depresiva, la enfermedad bipolar, la ansiedad, la esquizofrenia, los trastornos de la alimentación, los trastornos del sueño y los trastornos de la cognición; epilepsia y trastornos convulsivos; disfunción de próstata, vejiga e intestino tal como, por ejemplo, la incontinencia urinaria, el retardo miccional, la hipersensibilidad rectal, la incontinencia fecal, la hipertrofia prostática benigna y la enfermedad inflamatoria intestinal; enfermedades y trastornos respiratorios y de las vías respiratorias tales como, por ejemplo, la rinitis alérgica, el asma y la enfermedad de las vías respiratorias reactivas y la enfermedad pulmonar obstructiva crónica; enfermedades y trastornos que dan como resultado o que están mediados por inflamación, tales como, por ejemplo la artritis reumatoide y la osteoartritis, el infarto de miocardio, diversas enfermedades y trastornos autoinmunes, la uveítis y la aterosclerosis; picor/prurito tal como, por ejemplo, la psoriasis; obesidad; trastornos lipídicos; cáncer; presión sanguínea; lesión medular; y trastornos cardiovasculares y renales, el procedimiento comprende administrar una cantidad eficaz para tratar la afección o para prevenir la afección de una o más de las composiciones farmacéuticas que se acaban de describir.

En aspectos adicionales, la presente invención proporciona procedimientos para sintetizar los compuestos de la invención, con protocolos y vías de síntesis representativos que se desvelan más adelante en el presente documento.

En consecuencia, es un objeto principal de la presente invención proporcionar una nueva serie de compuestos, que pueden modificar la actividad del receptor P2X₇ y, por tanto, evitar o tratar cualesquier enfermedades que puedan estar relacionadas causalmente con ello.

Es un objeto adicional de la presente invención proporcionar una serie de compuestos que pueden tratar o aliviar enfermedades o síntomas de las mismas, tales como el dolor y la inflamación, que pueden estar relacionados causalmente con la activación del receptor P2X₇.

Un objeto adicional más de la presente invención es proporcionar composiciones farmacéuticas que son eficaces en el tratamiento o la prevención de una diversidad de patologías, incluyendo las enfermedades asociadas al sistema nervioso central, las afecciones cardiovasculares, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), la enfermedad inflamatoria intestinal, la artritis reumatoide, la osteoartritis y otras enfermedades en las que está presente un componente inflamatorio.

Otros objetos y ventajas serán evidentes para los expertos en la materia a partir de una consideración de la siguiente descripción detallada.

Descripción detallada de la invención

Definiciones

5 Cuando se describen los compuestos, las composiciones farmacéuticas que contienen dichos compuestos y los procedimientos de uso de dichos compuestos y composiciones, los siguientes términos tienen los siguientes significados a menos que se indique lo contrario. También debe entenderse que cualquiera de los restos que se definen a continuación puede estar sustituido con una diversidad de sustituyentes y que se pretende que las definiciones respectivas incluyan dichos restos sustituidos dentro de su ámbito. Debe entenderse además que los
10 términos "grupos" y "radicales" pueden considerarse intercambiables cuando se usan en el presente documento.

"Acilo" se refiere a un radical $-C(O)R^{20}$, donde R^{20} es hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, cicloheteroalquilo, arilo, arilalquilo, heteroalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo como se definen en el presente documento. Los ejemplos representativos incluyen, pero no se limitan a, formilo, acetilo, ciclohexilcarbonilo, ciclohexilmetilcarbonilo, benzoílo, bencilcarbonilo y similares.

15 "Acilamino" se refiere a un radical $-NR^{21}C(O)R^{22}$, donde R^{21} es hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, cicloheteroalquilo, arilo, arilalquilo, heteroalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo y R^{22} es hidrógeno, alquilo, alcoxi, cicloalquilo, cicloheteroalquilo, arilo, arilalquilo, heteroalquilo, heteroarilo o heteroarilalquilo, como se definen en el presente documento. Los ejemplos representativos incluyen, pero no se limitan a, formilamino, acetilamino, ciclohexilcarbonilamino, ciclohexilmetilcarbonilamino, benzoilamino, bencilcarbonilamino y similares.

20 "Aciloxi" se refiere al grupo $-OC(O)R^{23}$ donde R^{23} es hidrógeno, alquilo, arilo o cicloalquilo.

"Alquenilo sustituido" incluye los grupos que se enumeran en la definición de "sustituido" en el presente documento y, en particular, se refiere a un grupo alquenilo que tiene 1 o más sustituyentes, por ejemplo de 1 a 5 sustituyentes, y en particular de 1 a 3 sustituyentes, seleccionados entre el grupo que consiste en acilo, acilamino, aciloxi, alcoxi, alcoxi sustituido, alcoxycarbonilo, alcoxycarbonilamino, amino, amino sustituido, aminocarbonilo, aminocarbonilamino,
25 aminocarboniloxi, arilo, ariloxi, azido, carboxilo, ciano, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, halógeno, hidroxilo, ceto, nitro, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, tioariloxi, tioceto, tiol, alquil-S(O)-, aril-S(O)-, alquil-S(O)₂- y aril-S(O)₂-.

"Alcoxi" se refiere al grupo $-OR^{24}$ donde R^{24} es alquilo. Los grupos alcoxi particulares incluyen, a modo de ejemplo, metoxi, etoxi, *n*-propoxi, isopropoxi, *n*-butoxi, *terc*-butoxi, *sec*-butoxi, *n*-pentoxi, *n*-hexoxi, 1,2-dimetilbutoxi y similares.

30 "Alcoxi sustituido" se refiere a los grupos que se enumeran en la definición de "sustituido" en el presente documento y, en particular, se refiere a un grupo alcoxi que tiene 1 o más sustituyentes, por ejemplo de 1 a 5 sustituyentes, y en particular de 1 a 3 sustituyentes, seleccionados entre el grupo que consiste en acilo, acilamino, aciloxi, alcoxi, alcoxi sustituido, alcoxycarbonilo, alcoxycarbonilamino, amino, amino sustituido, aminocarbonilo, aminocarbonilamino, aminocarboniloxi, arilo, ariloxi, azido, carboxilo, ciano, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, halógeno, heteroarilo,
35 hidroxilo, ceto, nitro, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, tioariloxi, tioceto, tiol, alquil-S(O)-, aril-S(O)-, alquil-S(O)₂- y aril-S(O)₂-.

"Alcoxycarbonilamino" se refiere al grupo $-NR^{25}C(O)OR^{26}$, donde R^{25} es hidrógeno, alquilo, arilo o cicloalquilo y R^{26} es alquilo o cicloalquilo.

40 "Alquilo" se refiere a grupos radicales alcano saturados monovalentes en particular que tienen hasta aproximadamente 11 átomos de carbono, más en particular como un alquilo inferior, de 1 a 8 átomos de carbono y aún más en particular, de 1 a 6 átomos de carbono. La cadena hidrocarbonada puede ser ya sea de cadena lineal o ramificada. Este término se ejemplifica mediante grupos tales como metilo, etilo, *n*-propilo, isopropilo, *n*-butilo, *iso*-butilo, *terc*-butilo, *n*-hexilo, *n*-octilo, *terc*-octilo y similares. La expresión "alquilo inferior" se refiere a grupos alquilo que tienen de 1 a 6 átomos de carbono.

45 "Alquilo sustituido" se refiere a los grupos que se enumeran en la definición de "sustituido" en el presente documento y, en particular, se refiere a un grupo alquilo que tiene 1 o más sustituyentes, por ejemplo de 1 a 5 sustituyentes, y en particular de 1 a 3 sustituyentes, seleccionados entre el grupo que consiste en acilo, acilamino, aciloxi, alcoxi, alcoxi sustituido, alcoxycarbonilo, alcoxycarbonilamino, amino, amino sustituido, aminocarbonilo, aminocarbonilamino, aminocarboniloxi, arilo, ariloxi, azido, carboxilo, ciano, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, halógeno, hidroxilo,
50 heteroarilo, ceto, nitro, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, tioariloxi, tioceto, tiol, alquil-S(O)-, aril-S(O)-, alquil-S(O)₂- y aril-S(O)₂-.

"Alquilenilo" se refiere a grupos radicales alqueno saturados divalentes que tienen de 1 a 11 átomos de carbono y más en particular de 1 a 6 átomos de carbono que pueden ser de cadena lineal o ramificada. Este término se ejemplifica mediante grupos tales como metileno ($-CH_2-$), etileno ($-CH_2CH_2-$), los isómeros de propileno (por ejemplo, $-CH_2CH_2CH_2-$ y $-CH(CH_3)CH_2-$) y similares.
55

- "Alquileo sustituido" se refiere a los grupos que se enumeran en la definición de "sustituido" en el presente documento y, en particular, se refiere a un grupo alquileo que tiene 1 o más sustituyentes, por ejemplo de 1 a 5 sustituyentes, y en particular de 1 a 3 sustituyentes, seleccionados entre el grupo que consiste en acilo, acilamino, aciloxi, alcoxi, alcoxi sustituido, alcoxicarbonilo, alcoxicarbonilamino, amino, amino sustituido, aminocarbonilo, aminocarbonilamino, aminocarboniloxi, arilo, ariloxi, azido, carboxilo, ciano, halógeno, hidroxilo, ceto, nitro, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, tioariloxi, tioceto, tiol, alquil-S(O)-, aril-S(O)-, alquil-S(O)₂- y aril-S(O)₂-.
- "Alqueno" se refiere a grupos hidrocarbilo olefínicamente insaturados monovalentes que tienen preferentemente de 2 a 11 átomos de carbono, en particular, de 2 a 8 átomos de carbono, y más en particular, de 2 a 6 átomos de carbono, que pueden ser de cadena lineal o ramificada y que tienen al menos 1 y en particular de 1 a 2 sitios de insaturación olefínica. Los grupos alqueno particulares incluyen etenilo (-CH=CH₂), *n*-propenilo (-CH₂CH=CH₂), isopropenilo (-C(CH₃)=CH₂), vinilo y vinilo sustituido y similares.
- "Alqueno" se refiere a grupos hidrocarbilo olefínicamente insaturados divalentes en particular que tienen hasta aproximadamente 11 átomos de carbono y más en particular de 2 a 6 átomos de carbono que pueden ser de cadena lineal o ramificada y que tienen al menos 1 y en particular de 1 a 2 sitios de insaturación olefínica. Este término se ejemplifica mediante grupos tales como etenileno (-CH=CH-), los isómeros de propenileno (por ejemplo, -CH=CHCH₂- y -C(CH₃)=CH- y -CH=C(CH₃)-) y similares.
- "Alquino" se refiere a grupos hidrocarbilo acetilénicamente o alquínicamente insaturados en particular que tienen de 2 a 11 átomos de carbono, y más en particular de 2 a 6 átomos de carbono que pueden ser de cadena lineal o ramificada y que tienen al menos 1 y en particular de 1 a 2 sitios de insaturación alquínica. Los ejemplos no limitantes de grupos alquino particulares incluyen acetilénico, etinilo (-C≡CH), propargilo (-CH₂C≡CH) y similares.
- "Alquino sustituido" se refiere a los grupos que se enumeran en la definición de "sustituido" en el presente documento y, en particular, se refiere a un grupo alquino que tiene 1 o más sustituyentes, por ejemplo de 1 a 5 sustituyentes, y en particular de 1 a 3 sustituyentes, seleccionados entre el grupo que consiste en acilo, acilamino, aciloxi, alcoxi, alcoxi sustituido, alcoxicarbonilo, alcoxicarbonilamino, amino, amino sustituido, aminocarbonilo, aminocarbonilamino, aminocarboniloxi, arilo, ariloxi, azido, carboxilo, ciano, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, halógeno, hidroxilo, ceto, nitro, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, tioariloxi, tioceto, tiol, alquil-S(O)-, aril-S(O)-, alquil-S(O)₂- y aril-S(O)₂-.
- "Alcanoílo" o "acilo" como se usan en el presente documento, se refieren al grupo R²⁷-C(O)-, donde R²⁷ es hidrógeno o alquilo como se ha definido anteriormente.
- "Arilo" se refiere a un grupo hidrocarbonado aromático monovalente derivado de la retirada de un átomo de hidrógeno de un solo átomo de carbono de un sistema de anillo aromático parental. Los grupos arilo típicos incluyen, pero no se limitan a, grupos derivados de aceantrileno, acenaftileno, acefenantrileno, antraceno, azuleno, benceno, criseno, coroneno, fluoranteno, fluoreno, hexaceno, hexafeno, hexaleno, *as*-indaceno, *s*-indaceno, indano, indeno, naftaleno, octaceno, octafeno, octaleno, ovaleno, penta-2,4-dieno, pentaceno, pentaleno, pentafeno, perileno, fenaleno, fenantreno, piceno, pleiadeno, pireno, pirantreno, rubiceno, trifenileno, trinaftaleno y similares. En particular, un grupo arilo comprende de 6 a 14 átomos de carbono.
- "Arilo sustituido" incluye los grupos que se enumeran en la definición de "sustituido" en el presente documento y, en particular, se refiere a un grupo arilo que puede estar opcionalmente sustituido con 1 o más sustituyentes, por ejemplo de 1 a 5 sustituyentes, en particular 1 a 3 sustituyentes, seleccionados entre el grupo que consiste en acilo, acilamino, aciloxi, alqueno, alqueno sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, alcoxicarbonilo, alquilo, alquilo sustituido, alquino, alquino sustituido, amino, amino sustituido, aminocarbonilo, aminocarbonilamino, aminocarboniloxi, arilo, ariloxi, azido, carboxilo, ciano, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, halógeno, hidroxilo, nitro, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, tioariloxi, tiol, alquil-S(O)-, aril-S(O)-, alquil-S(O)₂- y aril-S(O)₂-.
- "Arilo condensado" se refiere a un arilo que tiene dos de sus carbonos de anillo en común con un segundo anillo de arilo o con un anillo alifático.
- "Alcarilo" se refiere a un grupo arilo, como se ha definido anteriormente, sustituido con uno o más grupos alquilo, como se han definido anteriormente.
- "Aralquilo" o "arilalquilo" se refieren a un grupo alquilo, como se ha definido anteriormente, sustituido con uno o más grupos arilo, como se han definido anteriormente.
- "Ariloxi" se refiere a grupos -O-arilo en los que "arilo" es como se ha definido anteriormente.
- "Alquilamino" se refiere al grupo alquil-NR²⁸R²⁹, en el que cada uno de R²⁸ y R²⁹ se selecciona independientemente entre hidrógeno y alquilo.
- "Aramino" se refiere al grupo aril-NR³⁰R³¹, en el que cada uno de R³⁰ y R³¹ se selecciona independientemente entre hidrógeno, arilo y heteroarilo.

- "Alcoxi-amino" se refiere a un radical $-N(H)OR^{32}$ donde R^{32} representa un grupo alquilo o cicloalquilo como se define en el presente documento.
- "Alcoxicarbonilo" se refiere a un radical $-C(O)alcoxi$ donde alcoxi es como se define en el presente documento.
- 5 "Alquil-amilamino" se refiere a un radical $-NR^{33}R^{34}$ donde R^{33} representa un grupo alquilo o cicloalquilo y R^{34} es un arilo como se define en el presente documento.
- "Alquilsulfonilo" se refiere a un radical $-S(O)_2R^{35}$ donde R^{35} es un grupo alquilo o cicloalquilo como se define en el presente documento. Los ejemplos representativos incluyen, pero no se limitan a, metilsulfonilo, etilsulfonilo, propilsulfonilo, butilsulfonilo y similares.
- 10 "Alquilsulfonilo" se refiere a un radical $-S(O)R^{35}$ donde R^{35} es un grupo alquilo o cicloalquilo como se define en el presente documento. Los ejemplos representativos incluyen, pero no se limitan a, metilsulfonilo, etilsulfonilo, propilsulfonilo, butilsulfonilo y similares.
- "Alquiltio" se refiere a un radical $-SR^{35}$ donde R^{35} es un grupo alquilo o cicloalquilo como se define en el presente documento que puede estar opcionalmente sustituido como se define en el presente documento. Los ejemplos representativos incluyen, pero no se limitan a, metiltio, etiltio, propiltio, butiltio y similares.
- 15 "Amino" se refiere al radical $-NH_2$.
- "Amino sustituido" se refiere a los grupos que se enumeran en la definición de "sustituido" en el presente documento y, en particular, se refiere al grupo $-N(R^{36})_2$ donde cada R^{36} se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, arilo, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido y donde ambos grupos R se unen para formar un grupo alqueno. Cuando ambos grupos R son hidrógeno, $-N(R^{36})_2$ es un grupo amino.
- 20 "Aminocarbonilo" se refiere al grupo $-C(O)NR^{37}R^{37}$ donde cada R^{37} es independientemente hidrógeno, alquilo, arilo y cicloalquilo, o donde los grupos R^{37} se unen para formar un grupo alqueno.
- "Aminocarbonilamino" se refiere al grupo $-NR^{38}C(O)NR^{38}R^{38}$ donde cada R^{38} es independientemente hidrógeno, alquilo, arilo o cicloalquilo, o donde dos grupos R se unen para formar un grupo alqueno.
- 25 "Aminocarboniloxi" se refiere al grupo $-OC(O)NR^{39}R^{39}$ donde cada R^{39} es independientemente hidrógeno, alquilo, arilo o cicloalquilo, o donde los grupos R se unen para formar un grupo alqueno.
- "Ari-alkiloxi" se refiere a un radical $-O-ari-alkilo$ donde ari-alkilo es como se define en el presente documento.
- "Ari-amilamino" significa un radical $-NHR^{40}$ donde R^{40} representa un grupo arilo como se define en el presente documento.
- 30 "Ari-alkilcarbonilo" se refiere a un radical $-C(O)-O-ari$ donde arilo es como se define en el presente documento.
- "Ari-sulfonilo" se refiere a un radical $-S(O)_2R^{41}$ donde R^{41} es un grupo arilo o heteroarilo como se define en el presente documento.
- "Azido" se refiere al radical $-N_3$.
- 35 "Bicicloarilo" se refiere a un grupo hidrocarbonado aromático monovalente derivado de la retirada de un átomo de hidrógeno de un solo átomo de carbono de un sistema de anillo bicicloaromático parental. Los grupos bicicloarilo típicos incluyen, pero no se limitan a, grupos derivados de indano, indeno, naftaleno, tetrahidronaftaleno y similares. En particular, un grupo arilo comprende de 8 a 11 átomos de carbono.
- "Bicicloheteroarilo" se refiere a un grupo bicicloheteroaromático monovalente derivado de la retirada de un átomo de hidrógeno de un solo átomo de un sistema de anillo bicicloheteroaromático parental. Los grupos bicicloheteroarilo típicos incluyen, pero no se limitan a, grupos derivados de benzofurano, bencimidazol, bencindazol, benzodioxano, cromeno, cromano, cinolina, ftalazina, indol, indolina, indolizina, isobenzofurano, isocromeno, isoindol, isoindolina, isoquinolina, benzotiazol, benzoxazol, naftiridina, benzoxadiazol, pteridina, purina, benzopirano, benzopirazina, piridopirimidina, quinazolina, quinolina, quinolizina, quinoxalina, benzomorfolano, tetrahidroisoquinolina, tetrahidroquinolina y similares. Preferentemente, el grupo bicicloheteroarilo es un bicicloheteroarilo de entre 9-11 miembros, prefiriéndose en particular el heteroarilo de 5-10 miembros. Son grupos bicicloheteroarilo particulares los derivados de benzotiofeno, benzofurano, benzotiazol, indol, quinolina, isoquinolina, bencimidazol, benzoxazol y benzodioxano.
- 40 "Carbamoilo" se refiere al radical $-C(O)N(R^{42})_2$ donde cada grupo R^{42} es independientemente hidrógeno, alquilo, cicloalquilo o arilo, como se definen en el presente documento, que puede estar opcionalmente sustituido como se define en el presente documento.
- 50

"Carboxi" se refiere al radical $-C(O)OH$.

"Carboxiamino" se refiere al radical $-N(H)C(O)OH$.

5 "Cicloalquilo" se refiere a grupos hidrocarbilo cíclicos que tienen de 3 a aproximadamente 10 átomos de carbono y que tienen un solo anillo cíclico o múltiples anillos condensados, incluyendo sistemas de anillo condensados y unidos, que opcionalmente pueden estar sustituidos con de 1 a 3 grupos alquilo. Dichos grupos cicloalquilo incluyen, a modo de ejemplo, estructuras de anillo sencillas tales como ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclooctilo, 1-metilciclopropilo, 2-metilciclopentilo, 2-metilciclooctilo, y similares, y estructuras de anillos múltiples tales como adamantilo y similares.

10 "Cicloalquilo sustituido" incluye los grupos que se enumeran en la definición de "sustituido" en el presente documento y, en particular, se refiere a un grupo cicloalquilo que tiene 1 o más sustituyentes, por ejemplo de 1 a 5 sustituyentes y, en particular, de 1 a 3 sustituyentes, seleccionados entre el grupo que consiste en acilo, acilamino, aciloxi, alcoxi, alcoxi sustituido, alcoxycarbonilo, alcoxycarbonilamino, amino, amino sustituido, aminocarbonilo, aminocarbonilamino, aminocarboniloxi, arilo, ariloxi, azido, carboxilo, ciano, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, halógeno, hidroxilo, ceto, nitro, tialcoxi, tialcoxi sustituido, tioariloxi, tioceto, tiol, alquil-S(O)-, aril-S(O)-, alquil-S(O)₂- y aril-S(O)₂-.

15 "Cicloalcoxi" se refiere al grupo $-OR^{43}$ donde R^{43} es cicloalquilo. Dichos grupos cicloalcoxi incluyen, a modo de ejemplo, ciclopentoxi, ciclohexoxi y similares.

20 "Cicloalquenilo" se refiere a grupos hidrocarbilo cíclicos que tienen de 3 a 10 átomos de carbono y que tienen un solo anillo cíclico o múltiples anillos condensados, incluyendo sistemas de anillo condensados y unidos y que tiene al menos uno y en particular de 1 a 2 sitios de insaturación olefínica. Dichos grupos cicloalquenilo incluyen, a modo de ejemplo, estructuras de un solo anillo tales como ciclohexenilo, ciclopentenilo, ciclopropenilo y similares.

25 "Cicloalquenilo sustituido" incluye los grupos que se enumeran en la definición de "sustituido" en el presente documento y, en particular, se refiere a un grupo cicloalquenilo que tiene 1 o más sustituyentes, por ejemplo de 1 a 5 sustituyentes y, en particular, de 1 a 3 sustituyentes, seleccionados entre el grupo que consiste en acilo, acilamino, aciloxi, alcoxi, alcoxi sustituido, alcoxycarbonilo, alcoxycarbonilamino, amino, amino sustituido, aminocarbonilo, aminocarbonilamino, aminocarboniloxi, arilo, ariloxi, azido, carboxilo, ciano, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, halógeno, hidroxilo, ceto, nitro, tialcoxi, tialcoxi sustituido, tioariloxi, tioceto, tiol, alquil-S(O)-, aril-S(O)-, alquil-S(O)₂- y aril-S(O)₂-.

30 "Cicloalquenilo condensado" se refiere a un cicloalquenilo que tiene dos de sus átomos de carbono de anillo en común con un segundo anillo alifático o aromático y que tiene su insaturación olefínica situada para transmitir aromaticidad al anillo cicloalquenilo.

"Cianato" se refiere al radical $-OCN$.

"Ciano" se refiere al radical $-CN$.

35 "Dialquilamino" significa un radical $-NR^{44}R^{45}$ donde R^{44} y R^{45} representan independientemente un alquilo, alquilo sustituido, arilo, arilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, cicloheteroalquilo, cicloheteroalquilo sustituido, heteroarilo o grupo heteroarilo sustituido como se definen en el presente documento.

"Etenilo" se refiere a $-(C=C)-$ sustituido o sin sustituir.

"Etileno" se refiere a $-(C-C)-$ sustituido o sin sustituir.

"Etileno" se refiere a $-(C\equiv C)-$.

40 "Halo" o "halógeno" se refiere a fluoro, cloro, bromo y yodo. Son grupos halo preferidos ya sea fluoro o cloro.

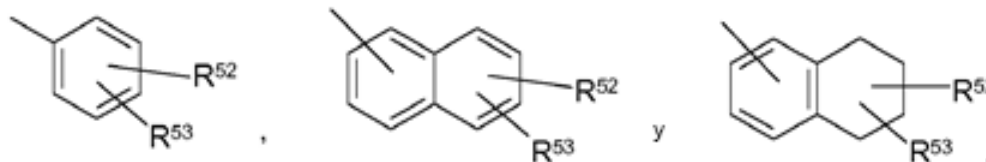
"Hidroxi" se refiere al radical $-OH$.

"Nitro" se refiere al radical $-NO_2$.

45 "Sustituido" se refiere a un grupo en el que uno o más átomos de hidrógeno están cada uno independientemente reemplazados por un sustituyente o sustituyentes iguales o diferentes. Los sustituyentes típicos incluyen, pero no se limitan a, $-X$, $-R^{46}$, $-O^-$, $=O$, $-OR^{46}$, $-SR^{46}$, $-S^-$, $=S$, $-NR^{46}R^{47}$, $=NR^{46}$, $-CX_3$, $-CF_3$, $-CN$, $-OCN$, $-SCN$, $-NO$, $-NO_2$, $=N_2$, $-N_3$, $-S(O)_2O^-$, $-S(O)_2OH$, $-S(O)_2R^{46}$, $-OS(O)_2O^-$, $-OS(O)_2R^{46}$, $-P(O)(O^-)_2$, $-P(O)(OR^{46})(O^-)$, $-OP(O)(OR^{46})(OR^{47})$, $-C(O)R^{46}$, $-C(S)R^{46}$, $-C(O)OR^{46}$, $-C(O)NR^{46}R^{47}$, $-C(O)O^-$, $-C(S)OR^{46}$, $-NR^{48}C(O)NR^{46}R^{47}$, $-NR^{48}C(S)NR^{46}R^{47}$, $-NR^{49}C(NR^{48})NR^{46}R^{47}$ y $-C(NR^{48})NR^{46}R^{47}$, donde cada X es independientemente un halógeno; cada R^{46} , R^{47} , R^{48} y R^{49} son independientemente hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, arilo, arilo sustituido, arilalquilo, alquilo sustituido, cicloalquilo, alquilo sustituido, cicloheteroalquilo, cicloheteroalquilo sustituido, heteroalquilo, heteroalquilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heteroarilalquilo, heteroarilalquilo sustituido, $-NR^{50}R^{51}$, $-C(O)R^{50}$ o $-S(O)_2R^{50}$ u, opcionalmente, R^{50} y R^{51} junto con el átomo al que están unidos los dos forman un cicloheteroalquilo o un anillo de

cicloheteroalquilo sustituido; y R^{50} y R^{51} son independientemente hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, arilo, alquilo sustituido, arilalquilo, alquilo sustituido, cicloalquilo, alquilo sustituido, cicloheteroalquilo, cicloheteroalquilo sustituido, heteroalquilo, heteroalquilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heteroarilalquilo o heteroarilalquilo sustituido.

- 5 Los ejemplos de arilos sustituidos representativos incluyen los siguientes

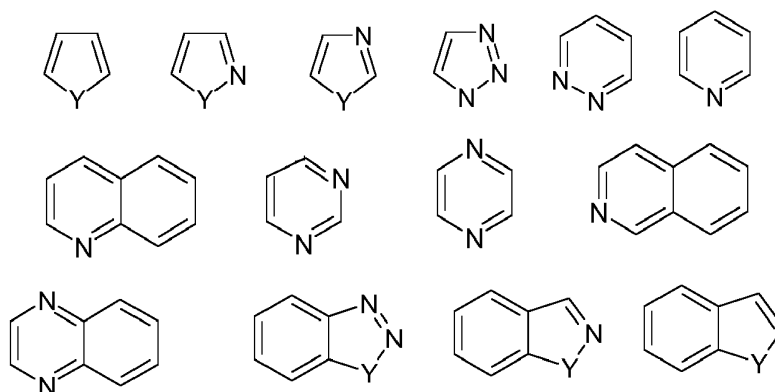


- 10 En estas fórmulas uno de R^{52} y R^{53} puede ser hidrógeno y al menos uno de R^{52} y R^{53} se selecciona cada uno independientemente entre alquilo, alqueno, alquino, cicloheteroalquilo, alcanoilo, alcoxi, ariloxi, heteroariloxi, alquilamino, arilamino, heteroarilamino, $NR^{54}COR^{55}$, $NR^{54}SOR^{55}$, $NR^{54}SO_2R^{57}$, COO-alquilo, COO-arilo, $CONR^{54}R^{55}$, $CONR^{54}OR^{55}$, $NR^{54}R^{55}$, $SO_2NR^{54}R^{55}$, S-alquilo, S-alquilo, SO-alquilo, SO-alquilo, S-arilo, SO-arilo, SO_2 -arilo; o R^{52} y R^{53} pueden estar unidos para formar un anillo cíclico (saturado o insaturado) de 5 a 8 átomos, que contiene opcionalmente uno o más heteroátomos seleccionados entre el grupo N, O o S. R^{54} , R^{55} y R^{56} son independientemente hidrógeno, alquilo, alqueno, alquino, perfluoroalquilo, cicloalquilo, cicloheteroalquilo, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, alquilo sustituido o heteroalquilo o similares.

- 15 "Hetero" cuando se usa para describir un compuesto o un grupo presente en un compuesto significa que uno o más átomos de carbono en el compuesto o grupo se han reemplazado por un heteroátomo de nitrógeno, oxígeno o azufre. Hetero puede aplicarse a cualquiera de los grupos hidrocarbilo descritos anteriormente tales como alquilo, por ejemplo heteroalquilo, cicloalquilo, por ejemplo heterocicloalquilo, arilo, por ejemplo heteroarilo, cicloalqueno, heterocicloalqueno y similares que tienen de 1 a 5 y, especialmente, de 1 a 3 heteroátomos.

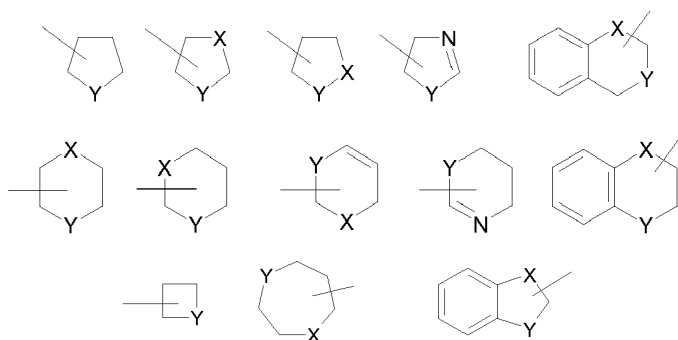
- 20 "Heteroarilo" se refiere a un grupo heteroaromático monovalente derivado de la retirada de un átomo de hidrógeno de un solo átomo de un sistema de anillo heteroaromático parental. Los grupos heteroarilo típicos incluyen, pero no se limitan a, grupos derivados de acridina, arsindol, carbazol, β -carbolina, cromano, cromeno, cinolina, furano, imidazol, indazol, indol, indolina, indolizina, isobenzofurano, isocromeno, isoindol, isoindolina, isoquinolina, isotiazol, isoxazol, naftiridina, oxadiazol, oxazol, perimidina, fenantridina, fenantrolina, fenazina, ftalazina, pteridina, purina, pirano, pirazina, pirazol, piridazina, piridina, pirimidina, pirrol, pirrolizina, quinazolina, quinolina, quinolizina, quinoxalina, tetrazol, tiadiazol, tiazol, tiofeno, triazol, xanteno y similares. En particular, el grupo heteroarilo es un heteroarilo de entre 5-15 miembros, prefiriéndose en particular el heteroarilo de 5-10 miembros. Son grupos heteroarilo particulares los derivados de tiofeno, pirrol, benzotiofeno, benzofurano, indol, piridina, quinolina, imidazol, oxazol y pirazina.

- 30 Los ejemplos de heteroarilos representativos incluyen los siguientes:



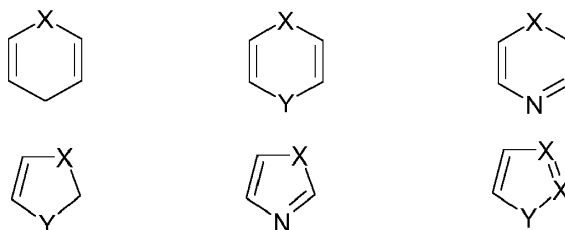
- 35 en los que cada Y se selecciona entre carbonilo, N, NR^{58} , O y S; y R^{58} es independientemente hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, cicloheteroalquilo, arilo, heteroarilo, heteroalquilo o similares.

- 40 Como se usa en el presente documento, el término "cicloheteroalquilo" se refiere a un anillo no aromático heterocíclico estable y a anillos condensados que contienen uno o más heteroátomos seleccionados independientemente entre N, O y S. Un sistema de anillo heterocíclico condensado puede incluir anillos carbocíclicos y solo necesita incluir un anillo heterocíclico. Los ejemplos de anillos heterocíclicos incluyen, pero no se limitan a, piperazinilo, homopiperazinilo, piperidinilo y morfolinilo, y se muestran en los siguientes ejemplos ilustrativos:



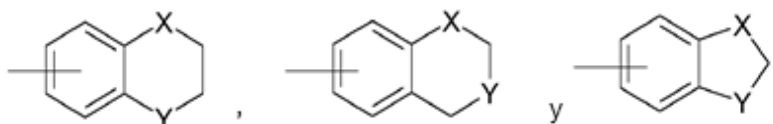
- 5 en los que cada X se selecciona entre CR⁵⁸, CR⁵⁸₂, NR⁵⁸, O y S; y cada Y se selecciona entre NR⁵⁸, O y S; y R⁵⁸ es independientemente hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, cicloheteroalquilo, arilo, heteroarilo, heteroalquilo o similares. Estos anillos de cicloheteroalquilo pueden estar opcionalmente sustituidos con uno o más grupos seleccionados entre el grupo que consiste en acilo, acilamino, aciloxi, alcoxi, alcoxi sustituido, alcoxycarbonilo, alcoxycarbonilamino, amino, amino sustituido, aminocarbonilo, aminocarbonilamino, aminocarboniloxi, arilo, ariloxi, azido, carboxilo, ciano, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, halógeno, hidroxilo, ceto, nitro, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, tioariloxi, tioceto, tiol, alquil-S(O)-, aril-S(O)-, alquil-S(O)₂- y aril-S(O)₂-. Los grupos sustituyentes incluyen carbonilo o tiocarbonilo que proporcionan, por ejemplo, derivados de lactama y de urea.
- 10

Los ejemplos de cicloheteroalquenos representativos incluyen los siguientes:



- 15 en los que cada X se selecciona entre CR⁵⁸, CR⁵⁸₂, NR⁵⁸, O y S; y cada Y se selecciona entre carbonilo, N, NR⁵⁸, O y S; y R⁵⁸ es independientemente hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, cicloheteroalquilo, arilo, heteroarilo, heteroalquilo o similares.

Los ejemplos de arilo representativos que tienen heteroátomos que contienen una sustitución incluyen los siguientes:



- 20 en los que cada X se selecciona entre CR⁵⁸, CR⁵⁸₂, NR⁵⁸, O y S; y cada Y se selecciona entre carbonilo, NR⁵⁸, O y S; y R⁵⁸ es independientemente hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, cicloheteroalquilo, arilo, heteroarilo, heteroalquilo o similares.

- 25 "Hetero sustituyente" se refiere a un grupo funcional que contiene un átomo de halo, O, S o N que puede estar presente como un R⁴ en un grupo R⁴C presente como sustituyente directamente en A, B, W, Y o Z de los compuestos de la presente invención o puede estar presente como un sustituyente en los grupos arilo y alifáticos "sustituidos" presentes en los compuestos.

Los ejemplos de hetero sustituyentes incluyen:

- 30 -halo,
 -NO₂, -NH₂, -NHR⁵⁹, -N(R⁵⁹)₂,
 -NRCOR, -NR⁵⁹SOR⁵⁹, -NR⁵⁹SO₂R⁵⁹, OH, CN,
 -CO₂H,
 -R⁵⁹-OH, -O-R⁵⁹, -COOR⁵⁹,
 -CON(R⁵⁹)₂, -CONROR⁵⁹,
 35 -SO₃H, -R⁵⁹-S, -SO₂N(R⁵⁹)₂,
 -S(O)R⁵⁹, -S(O)₂R⁵⁹

en los que cada R⁵⁹ es independientemente un grupo arilo o alifático, opcionalmente con sustitución. Entre los hetero sustituyentes que contienen grupos R⁵⁹, se da preferencia a los materiales que tienen grupos R⁵⁹ arilo y alquilo como

se definen en el presente documento. Son hetero sustituyentes preferidos los enumerados anteriormente.

"Dihidroxifosforilo" se refiere al radical $-\text{PO}(\text{OH})_2$.

5 "Dihidroxifosforilo sustituido" incluye los grupos que se enumeran en la definición de "sustituido" en el presente documento y, en particular, se refiere a un radical dihidroxifosforilo en el que uno o los dos grupos hidroxilo están sustituidos. Se describen sustituyentes adecuados en detalle a continuación.

"Aminohidroxifosforilo" se refiere al radical $-\text{PO}(\text{OH})\text{NH}_2$.

10 "Aminohidroxifosforilo sustituido" incluye los grupos que se enumeran en la definición de "sustituido" en el presente documento y, en particular, se refiere a un aminohidroxifosforilo en el que el amino grupo está sustituido con uno o dos sustituyentes. Se describen sustituyentes adecuados en detalle a continuación. En ciertas realizaciones, el grupo hidroxilo también puede estar sustituido.

"Tioalcoxi" se refiere al grupo $-\text{SR}^{60}$ donde R^{60} es alquilo.

15 "Tioalcoxi sustituido" incluye los grupos que se enumeran en la definición de "sustituido" en el presente documento y, en particular, se refiere a un grupo tioalcoxi que tiene 1 o más sustituyentes, por ejemplo de 1 a 5 sustituyentes y, en particular, de 1 a 3 sustituyentes, seleccionados entre el grupo que consiste en acilo, acilamino, aciloxi, alcoxi, alcoxi sustituido, alcoxycarbonilo, alcoxycarbonilamino, amino, amino sustituido, aminocarbonilo, aminocarbonilamino, aminocarboniloxi, arilo, ariloxi, azido, carboxilo, ciano, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, halógeno, hidroxilo, ceto, nitro, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, tioariloxi, tioceto, tiol, alquil-S(O)-, aril-S(O)-, alquil-S(O)₂- y aril-S(O)₂-.

"Sulfanilo" se refiere al radical HS-. "Sulfanilo sustituido" se refiere a un radical tal como RS- en el que R es cualquier sustituyente descrito en el presente documento.

20 "Sulfonilo" se refiere al radical divalente $-\text{S}(\text{O}_2)-$. "Sulfonilo sustituido" se refiere a un radical tal como $\text{R}^{61}-(\text{O}_2)\text{S}-$, en el que R^{61} es cualquier sustituyente descrito en el presente documento. "Aminosulfonilo" o "Sulfonamida" se refieren al radical $\text{H}_2\text{N}(\text{O}_2)\text{S}-$, y "aminosulfonilo sustituido" "sulfonamida sustituida" se refieren a un radical tal como $\text{R}^{62}\text{N}(\text{O}_2)\text{S}-$ en el que cada R^{62} es independientemente cualquier sustituyente descrito en el presente documento.

25 "Sulfona" se refiere al grupo $-\text{SO}_2\text{R}^{63}$. En realizaciones particulares, R^{63} se selecciona entre alquilo inferior, alquilo, arilo y heteroarilo.

"Tioariloxi" se refiere al grupo $-\text{SR}^{64}$ donde R^{64} es arilo.

"Tioceto" se refiere al grupo $=\text{S}$.

"Tiol" se refiere al grupo $-\text{SH}$.

30 Un experto habitual en la técnica de la síntesis orgánica reconocerá que el número máximo de heteroátomos en un anillo heterocíclico estable, químicamente factible, ya sea aromático o no aromático, se determina por el tamaño del anillo, el grado de insaturación y la valencia de los heteroátomos. En general, un anillo heterocíclico puede tener de uno a cuatro heteroátomos, siempre que el anillo heteroaromático sea químicamente factible y estable.

35 "Farmacéuticamente aceptable" significa aprobado por una agencia reguladora del gobierno Federal o de un gobierno estatal, o enumerado en la Farmacopea de los EE.UU. u otra farmacopea reconocida en general para su uso en animales y más en particular en seres humanos.

40 "Sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a una sal de un compuesto de la presente invención que es farmacéuticamente aceptable y que posee la actividad farmacológica deseada del compuesto parental. Dichas sales incluyen: (1) sales de adición de ácido, formadas con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y similares; o formadas con ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido propiónico, ácido hexanoico, ácido ciclopentanopropiónico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido láctico, ácido malónico, ácido succínico, ácido málico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido 3-(4-hidroxibenzoil)benzoico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido 1,2-etano-disulfónico, ácido 2-hidroxietanosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido 4-clorobencenosulfónico, ácido 2-naftalenosulfónico, ácido 4-toluenosulfónico, ácido canforsulfónico, ácido 4-metilbencilo[2.2.2]-oct-2-eno-1-carboxílico, ácido glucoheptónico, ácido 3-fenilpropiónico, ácido trimetilacético, ácido butilacético terciario, ácido lauril sulfúrico, ácido glucónico, ácido glutámico, ácido hidroxinaftoico, ácido salicílico, ácido esteárico, ácido mucónico y similares; o (2) sales formadas cuando un protón ácido presente en el compuesto parental se reemplaza por un ion metálico, por ejemplo, un ion de metal alcalino, un ion alcalinotérreo o un ion de aluminio; o se coordina con una base orgánica tal como etanolamina, dietanolamina, trietanolamina, N-metilglucamina y similares. Las sales incluyen adicionalmente, a modo de ejemplo solamente, sodio, potasio, calcio, magnesio, amonio, tetraalquilamonio y similares; y cuando el compuesto contiene un grupo funcional básico, sales de ácidos orgánicos o inorgánicos atóxicos, tales como clorhidrato, bromhidrato, tartrato, mesilato, acetato, maleato, oxalato y similares. La expresión "catión farmacéuticamente aceptable" se refiere a un contraión catiónico aceptable atóxico de un grupo funcional ácido. Dichos cationes se ejemplifican mediante cationes de sodio, potasio, calcio,

magnesio, amonio, tetraalquilamonio y similares.

"Vehículo farmacéuticamente aceptable" se refiere a un diluyente, adyuvante, excipiente o vehículo con el que se administra un compuesto de la invención.

5 "Prevenir" o "prevención" se refieren a una reducción en el riesgo de adquirir una enfermedad o trastorno (es decir, provocando que al menos uno de los síntomas clínicos de la enfermedad no se desarrolle en un sujeto que puede estar expuesto o predispuesto a la enfermedad pero que todavía no experimenta o muestra síntomas de la enfermedad).

10 "Solvato" se refiere a formas del compuesto que se asocian con un disolvente, por lo general mediante una reacción de solvólisis. Los disolventes convencionales incluyen agua, etanol, ácido acético y similares. Los compuestos de la invención pueden prepararse por ejemplo en forma cristalina y pueden solvatarse o hidratarse. Los solvatos adecuados incluyen los solvatos farmacéuticamente aceptables, tales como hidratos, y además incluyen tanto los solvatos estequiométricos como los solvatos no estequiométricos.

"Sujeto" incluye a los seres humanos. Las expresiones "ser humano", "paciente" y "sujeto" se usan indistintamente en el presente documento.

15 "Cantidad terapéuticamente eficaz" significa la cantidad de un compuesto que, cuando se administra a un sujeto para tratar una enfermedad, es suficiente para efectuar dicho tratamiento para la enfermedad. La "cantidad terapéuticamente eficaz" puede variar dependiendo del compuesto, la enfermedad y su gravedad, y la edad, peso, etc., del sujeto que se trata.

20 "Tratar" o "tratamiento" de cualquier enfermedad o trastorno se refieren, en una realización, a mejorar la enfermedad o trastorno (es decir, detener o reducir el desarrollo de la enfermedad o al menos uno de los síntomas clínicos de la misma). En otra realización "tratar" o "tratamiento" se refieren a mejorar al menos un parámetro físico, que puede no ser discernible por el sujeto. En otra realización más, "tratar" o "tratamiento" se refieren a la modulación de la enfermedad o trastorno, ya sea físicamente, (por ejemplo, estabilización de un síntoma discernible), fisiológicamente, (por ejemplo, estabilización de un parámetro físico) o ambos. En otra realización más, "tratar" o
25 "tratamiento" se refieren a retrasar el comienzo de la enfermedad o trastorno.

Otros derivados de los compuestos de la presente invención tienen actividad tanto en sus formas de ácido y de derivado de ácido, pero en la forma sensible a los ácidos a menudo ofrecen ventajas de solubilidad, compatibilidad con tejidos o liberación retardada en el organismo de mamífero (véase Bundgard, H., *Design of Prodrugs*, págs. 7-9, 21-24, Elsevier, Ámsterdam, 1985). Los profármacos incluyen derivados de ácido bien conocidos por los expertos en
30 la materia, tales como, por ejemplo, ésteres preparados mediante la reacción del ácido parental con un alcohol adecuado, o amidas preparadas mediante la reacción del compuesto ácido parental con una amina sustituida o sin sustituir, o anhídridos de ácido, o anhídridos mixtos. Son profármacos preferidos los ésteres, las amidas y los anhídridos simples alifáticos o aromáticos derivados de grupos ácidos que cuelgan de los compuestos de la presente invención. En algunos casos es deseable preparar profármacos de tipo éster doble tales como ésteres de (aciloxi)alquilo o ésteres de ((alcoxycarbonil)oxi)alquilo. Se prefieren los ésteres de alquilo C₁ a C₈, alquenilo C₂-C₈, arilo, arilo C₇-C₁₂ sustituido y arilalquilo C₇-C₁₂ de los compuestos de la invención.

Como se usa en el presente documento, la expresión "variante isotópica" se refiere a un compuesto que contiene proporciones no naturales de isótopos en uno o más de los átomos que constituyen dicho compuesto. Por ejemplo, una "variante isotópica" de un compuesto puede contener uno o más isótopos no radiactivos, tales como, por
40 ejemplo, deuterio (²H o D), carbono-13 (¹³C), nitrógeno-15 (¹⁵N) o similares. Se entenderá que, en un compuesto en el que se hace dicha sustitución isotópica, los siguientes átomos, cuando están presentes, pueden variar, de modo que por ejemplo, cualquier hidrógeno puede ser ²H/D, cualquier carbono puede ser ¹³C o cualquier nitrógeno puede ser ¹⁵N y que la presencia y la colocación de dichos átomos pueden determinarse dentro de la experiencia de la técnica. Análogamente, la invención puede incluir la preparación de variantes isotópicas con radioisótopos, en el
45 caso por ejemplo, en el que los compuestos resultantes puedan utilizarse para estudios de distribución tisular del fármaco y/o sustrato. Los isótopos radiactivos tritio, es decir, ³H y carbono-14, es decir, ¹⁴C, son particularmente útiles para este fin en vista de su facilidad de incorporación y medios rápidos de detección. Además, pueden prepararse compuestos que están sustituidos con isótopos emisores de positrones, tales como ¹¹C, ¹⁸F, ¹⁵O y ¹³N, y serían útiles en estudios de Tomografía por Emisión Positrones (PET) para examinar la ocupación del receptor por el
50 sustrato.

Se pretende que todas las variantes isotópicas de los compuestos proporcionados en el presente documento, radiactivas o no, estén incluidas dentro del ámbito de la invención.

También ha de entenderse que los compuestos que tienen la misma fórmula molecular pero difieren en la naturaleza o secuencia de unión de sus átomos o la disposición de sus átomos en el espacio se denominan "isómeros". Los
55 isómeros que difieren en la disposición de sus átomos en el espacio se denominan "estereoisómeros".

Los estereoisómeros que no son imágenes especulares uno de otro se denominan "diastereoisómeros" y los que son imágenes especulares no superponibles entre sí se denominan "enantiómeros". Cuando un compuesto tiene un

centro asimétrico, por ejemplo, está unido a cuatro grupos diferentes, es posible un par de enantiómeros. Un enantiómero puede caracterizarse mediante la configuración absoluta de su centro asimétrico y se describe mediante las reglas de secuenciación de R y S de Cahn y Prelog, o mediante la manera en la que la molécula rota el plano de luz polarizada, y se señala como dextrógiro o levógiro (es decir, como isómeros (+) o (-) respectivamente).
 5 Un compuesto quiral puede existir ya sea como enantiómero individual o como una mezcla de los mismos. Una mezcla que contiene proporciones iguales de los enantiómeros se llama "mezcla racémica".

"Tautómeros" se refiere a compuestos que son formas intercambiables de una estructura de compuesto particular y que varían en el desplazamiento de átomos de hidrógeno y electrones. Por tanto, dos estructuras pueden estar en equilibrio a través del movimiento de los electrones π y un átomo (por lo general H). Por ejemplo, los enoles y las cetonas son tautómeros debido a que se interconvierten rápidamente mediante el tratamiento ya sea con un ácido o una base. Otro ejemplo de tautomería son las formas aci y nitro del fenilnitrometano, que se forman análogamente mediante el tratamiento con un ácido o una base.

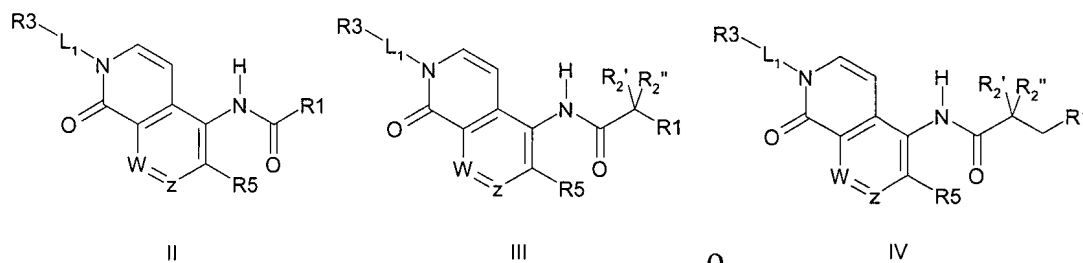
Las formas tautoméricas pueden ser relevantes para la consecución de la reactividad química y la actividad biológica óptimas de un compuesto de interés.

15 Los compuestos de la presente invención pueden poseer uno o más centros asimétricos; por tanto, dichos compuestos pueden producirse como estereoisómeros (R) o (S) o como mezclas de los mismos. A menos que se indique lo contrario, se pretende que la descripción o denominación de un compuesto particular en la memoria descriptiva y las reivindicaciones incluya tanto los enantiómeros individuales como las mezclas, racémicas u otras, de los mismos. Los procedimientos para la determinación de la estereoquímica y la separación de estereoisómeros son bien conocidos en la técnica.

LOS COMPUESTOS

La presente invención proporciona compuestos de bicicloheteroarilo útiles para la prevención y/o el tratamiento de una amplia gama de afecciones, asociadas a anomalías en la actividad del receptor P2X₇, entre ellas, la artritis reumatoide, la enfermedad de Parkinson, la uveítis, el asma, las afecciones cardiovasculares tales como el infarto de miocardio, el tratamiento y la profilaxis de síndromes dolorosos (agudos y crónicos o neuropáticos), la lesión cerebral traumática, la lesión medular aguda, los trastornos neurodegenerativos, la enfermedad inflamatoria intestinal y las disfunciones inmunitarias tales como los trastornos o afecciones autoinmunes, en los mamíferos.

En un primer aspecto de la invención, se desvelan compuestos de bicicloheteroarilo que son capaces de modular la actividad del receptor P2X₇ *in vivo*, de acuerdo con la fórmula II, III o IV:



en las que

W y Z son CH;

L¹ es alquileo C₁-C₅ sustituido o sin sustituir;

R¹ se selecciona entre arilo y heteroarilo de 5-13 miembros sustituidos o sin sustituir;

35 cada R^{2'} y R^{2''} se selecciona independientemente entre hidrógeno, halo, alquilo C₁-C₆ sustituido o sin sustituir, o cualquiera de R^{2'} y R^{2''} se unen para formar un anillo cicloalquilo o cicloheteroalquilo de 3-7 átomos;

R³ es hidroxilo, amino, alquilamino o carbamoilo;

R⁵ es H, Me, ciclopropilo, Cl, F o CF₃;

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de los mismos;

40 y estereoisómeros, variantes isotópicas y tautómeros de los mismos.

En otra realización, con respecto a los compuestos de fórmulas III-IV, cada uno de R^{2'} y R^{2''} es H.

En otra realización, con respecto a los compuestos de fórmulas III-IV, R^{2'} es halo; y R^{2''} es H.

En otra realización, con respecto a los compuestos de fórmulas III-IV, R^{2'} es Cl o F; y R^{2''} es H.

En otra realización, con respecto a los compuestos de fórmulas III-IV, R^{2'} es Me o Et; y R^{2''} es H.

45 En otra realización, con respecto a los compuestos de fórmulas III-IV, cada uno de R^{2'} y R^{2''} es Me.

En una realización más particular, con respecto a los compuestos de fórmulas III-IV, R²ⁱ es Me; y R²ⁿ es H.

En otra realización, con respecto a los compuestos de fórmulas II-IV, R¹ es arilo sustituido o sin sustituir.

En otra realización, con respecto a los compuestos de fórmulas II-IV, R¹ es fenilo o naftaleno sustituido o sin sustituir.

5 En otra realización, con respecto a los compuestos de fórmulas II-IV, R¹ es naftaleno sustituido o sin sustituir.

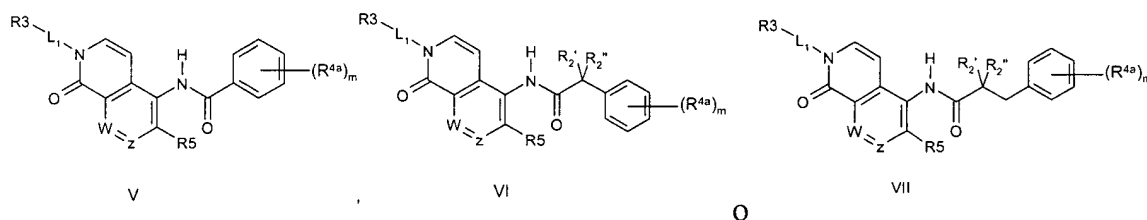
En otra realización, con respecto a los compuestos de fórmulas II-IV, R¹ es naftaleno sin sustituir.

En otra realización, con respecto a los compuestos de fórmulas II-IV, R¹ es fenilo sustituido o sin sustituir.

En otra realización, con respecto a los compuestos de fórmulas II-IV, R¹ es heteroarilo sustituido o sin sustituir.

10 En otra realización, con respecto a los compuestos de fórmulas II-IV, R¹ es piridilo sustituido o sin sustituir, quinolina sustituida o sin sustituir, benzodioxol sustituido o sin sustituir, benzodioxano sustituido o sin sustituir, benzofurano sustituido o sin sustituir, benzotiofeno sustituido o sin sustituir y benzodioxepina sustituida o sin sustituir.

En otra realización, con respecto a los compuestos de fórmulas II, III o IV, el compuesto es de acuerdo con la fórmula V, VI o VII:



15 en las que

W, Z, L¹, R²ⁱ, R²ⁿ, R³ y R⁵ son como se han descrito para las fórmulas II, III y IV; R^{4a} se selecciona entre H, alquilo, alquilo sustituido, acilo, acilo sustituido, acilamino sustituido o sin sustituir, alquilamino sustituido o sin sustituir, alquiltio sustituido o sin sustituir, alcoxi sustituido o sin sustituir, ariloxi, alcoxicarbonilo, alcoxicarbonilo sustituido, alquilarilamino sustituido o sin sustituir, arilalquiloxi, arilalquiloxi sustituido, amino, arilo, arilo sustituido, arilalquilo, sulfóxido sustituido o sin sustituir, sulfona sustituida o sin sustituir, sulfanilo sustituido o sin sustituir, aminosulfonilo sustituido o sin sustituir, arilsulfonilo sustituido o sin sustituir, ácido sulfúrico, éster de ácido sulfúrico, dihidroxifosforilo sustituido o sin sustituir, aminodihidroxifosforilo sustituido o sin sustituir, azido, carboxi, carbamoilo sustituido o sin sustituir, ciano, cicloalquilo sustituido o sin sustituir, cicloheteroalquilo sustituido o sin sustituir, dialquilamino sustituido o sin sustituir, halo, heteroariloxi, heteroarilo sustituido o sin sustituir, heteroalquilo sustituido o sin sustituir, hidroxilo, nitro y tio; y m se selecciona entre 0-5; o una sal, solvato o profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo; y estereoisómeros, variantes isotópicas y tautómeros del mismo.

30 Con respecto a los compuestos de la invención en los que m es 0-5 como se ha expuesto anteriormente, y en cualquier y todos los emplazamientos en el presente documento, ha de entenderse que cuando m = 0, el anillo está sin sustituir.

En una realización, con respecto a los compuestos de fórmulas VI-VII, cada uno de R²ⁱ y R²ⁿ es H.

En otra realización, con respecto a los compuestos de fórmulas VI-VII, R²ⁱ es halo; y R²ⁿ es H.

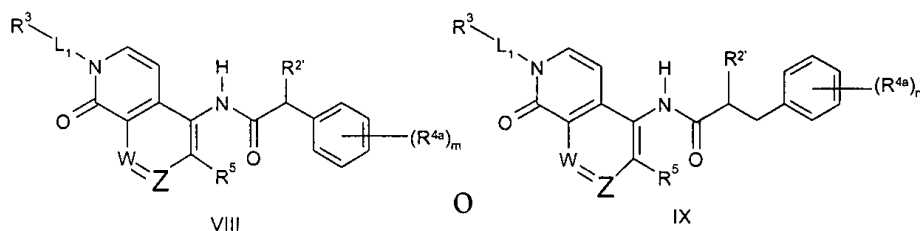
En otra realización, con respecto a los compuestos de fórmulas VI-VII, R²ⁱ es Cl o F; y R²ⁿ es H.

En otra realización, con respecto a los compuestos de fórmulas VI-VII, R²ⁱ es Me o Et y R²ⁿ es H.

35 En otra realización, con respecto a los compuestos de fórmulas VI-VII, cada uno de R²ⁱ y R²ⁿ es Me.

En una realización más particular, con respecto a los compuestos de fórmulas VI-VII, R²ⁱ es Me; y R²ⁿ es H.

En otra realización, con respecto a los compuestos de fórmula I, el compuesto es de acuerdo con la fórmula VIII o IX:



y en las que L^1 , R^{2i} , R^3 y R^5 son como se han descrito para las fórmulas II-IV; y R^{4a} y m son como se han descrito para las fórmulas V-VII.

5 En una realización, con respecto a los compuestos de fórmulas V-IX, R^{2i} es H o Me. En otra realización, R^{2i} es Me. En una realización particular, R^{2i} es H.

En otra realización, con respecto a los compuestos de fórmulas V-IX, m es 1, 2 o 3.

En otra forma de realización, con respecto a los compuestos de fórmulas V a IX, m es 1 o 2. En una realización particular, m es 2.

10 En otra realización, con respecto a los compuestos de fórmulas V-IX, cada uno de R^{4a} se selecciona independientemente entre Me, Et, Ph, Cl, F, Br, CN, OH, OMe, OEt, OPh, CPh, CF_3 , CHF_2 , OCF_3 , i-Pr, i-Bu, t-Bu, SMe, $CH=CH-CO_2H$, SOME, SO_2Me , SO_3H , SO_3Me y piridilo.

En otra realización, con respecto a los compuestos de fórmulas II-IX, L^1 es un grupo alquileo C_1-C_5 .

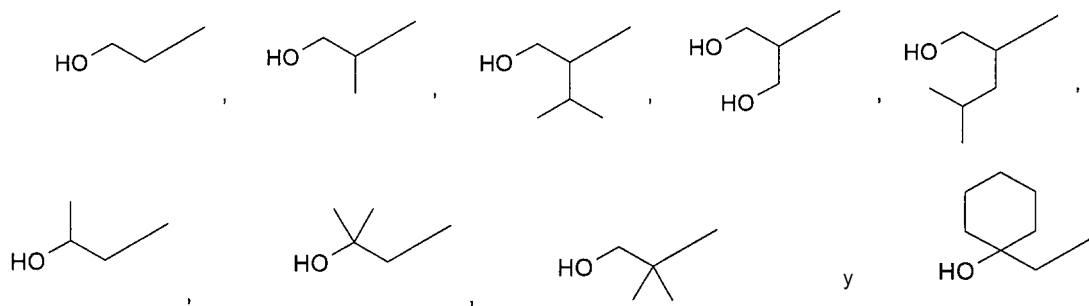
En otra realización, con respecto a los compuestos de fórmulas II-IX, L^1 es un alquileo C_1-C_5 sin sustituir o sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados entre alquilo, hidroxilo, oxo e hidroxialquilo.

15 En otra realización, con respecto a los compuestos de fórmulas II-IX, L^1 es un etileno sin sustituir o sustituido con uno o más sustituyentes seleccionado entre Me, Et, i-Pr, hidroxil e hidroximetilo.

En otra realización, con respecto a los compuestos de fórmulas II-IX, L^1 es un metileno sin sustituir o sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados entre Me, Et, i-Pr e hidroximetilo.

20 En otra realización, con respecto a los compuestos de fórmulas II-IX, R^3 se selecciona entre hidroxilo, amino, alquilamino o carbamoilo.

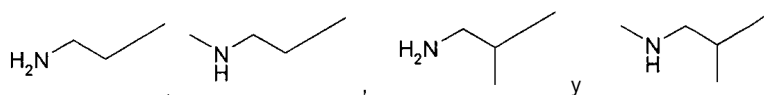
En otra realización, con respecto a los compuestos de fórmulas II-IX, el grupo $-L_1-R^3$ se selecciona entre



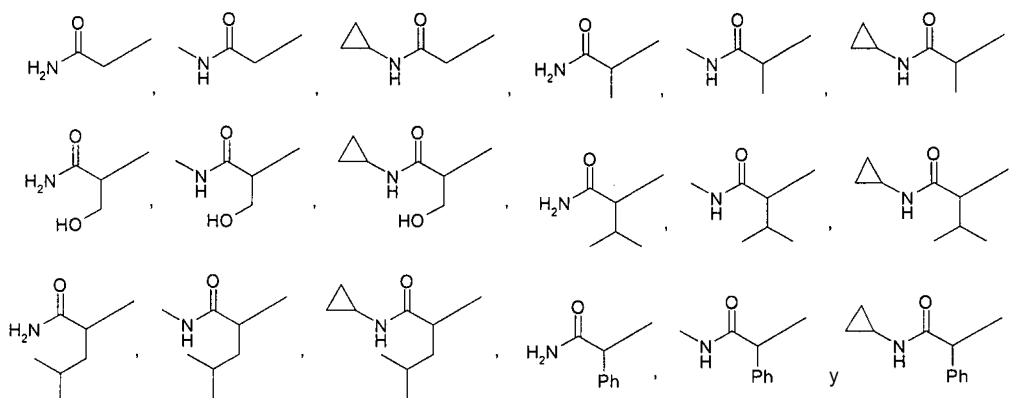
En una realización particular, con respecto a los compuestos de fórmulas II-IX, el grupo $-L_1-R^3$ es



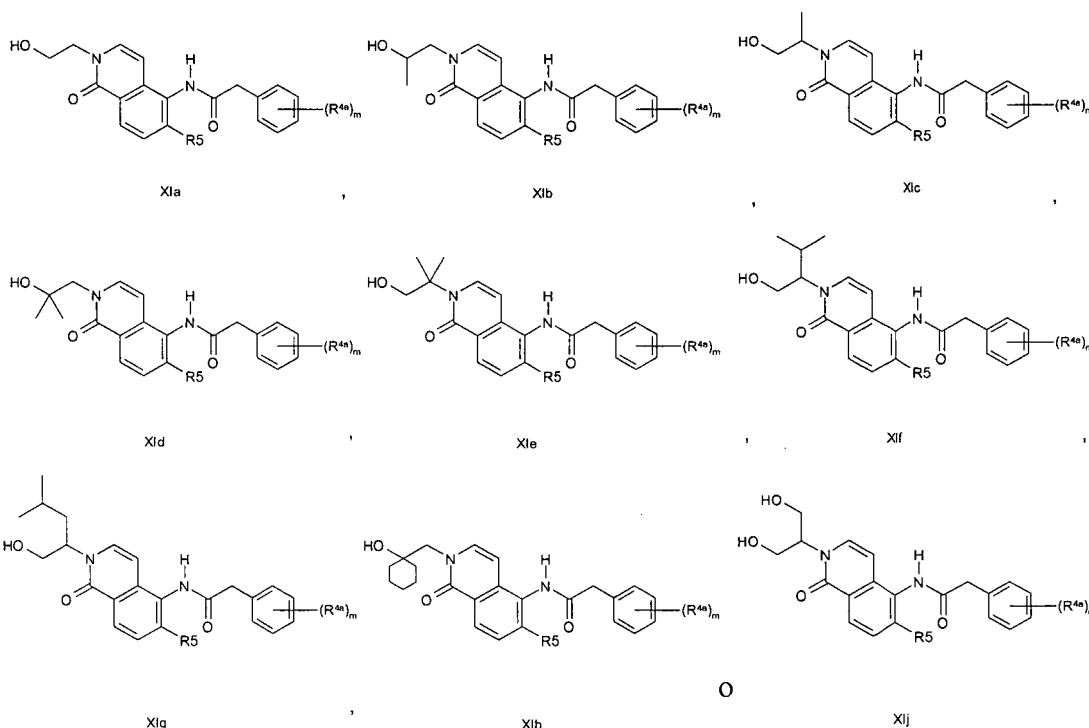
En otra realización, con respecto a los compuestos de fórmulas II-IX, el grupo $-L_1-R^3$ se selecciona entre



En otra realización, con respecto a los compuestos de fórmulas II-IX, el grupo $-L_1-R^3$ se selecciona entre

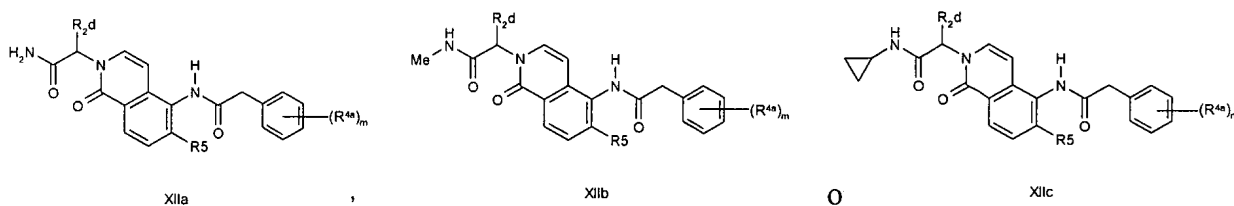


5 En otra realización, con respecto a los compuestos de fórmula I, el compuesto es de acuerdo con la fórmula Xla, Xlb, Xlc, Xld, Xle, Xlf, Xlg, Xlh, Xli o Xlj:



10 y en las que R^5 es como se ha descrito para las fórmulas II-IV; y R^{4a} y m son como se han descrito para las fórmulas V-VII.

En otra realización, con respecto a los compuestos de fórmula I, el compuesto es de acuerdo a la fórmula XIIa, XIIb o XIIc:



15 y en las que R^5 es como se ha descrito para las fórmulas II-IV; R^{4a} y m son como se han descrito para las fórmulas V-VII; y R^{2d} se selecciona entre hidrógeno, alquilo, hidroxialquilo y fenilo sustituido o sin sustituir. En una realización particular, R^{2d} es hidrógeno, metilo, i-Pr e hidroximetilo. En otra realización particular, R^{2d} es fenilo. En otra realización particular, R^{2d} es hidrógeno. En otra realización particular más, R^{2d} es metilo.

En otra realización, con respecto a los compuestos de fórmula I, el compuesto es de acuerdo a la fórmula XIIIa o XIIIb:

administrado, la edad, el peso y la respuesta del paciente individual, la gravedad de los síntomas del paciente y similares.

5 Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden administrarse por una diversidad de vías incluyendo la oral, rectal, transdérmica, subcutánea, intravenosa, intramuscular e intranasal. Dependiendo de la vía de liberación pretendida, los compuestos de la presente invención se formulan preferentemente como composiciones ya sea inyectables u orales o como pomadas, como lociones o como parches, todos para la administración transdérmica.

10 Las composiciones para la administración oral pueden tomar la forma de soluciones o suspensiones líquidas a granel o polvos a granel. Más habitualmente, sin embargo, las composiciones se presentan en formas de dosificación unitarias para facilitar la dosificación exacta. La expresión "formas de dosificación unitarias" se refiere a unidades físicamente individuales adecuadas como dosis unitarias para sujetos humanos y otros mamíferos, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de material activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con un excipiente farmacéutico adecuado. Las formas de dosificación unitarias típicas incluyen ampollas o jeringas precargadas y medidas previamente de las composiciones líquidas o píldoras, comprimidos, cápsulas o similares en el caso de las composiciones sólidas. En dichas composiciones, el compuesto de ácido furansulfónico es por lo general un componente minoritario (de aproximadamente el 0,1 a aproximadamente el 50 % en peso o preferentemente de aproximadamente el 1 a aproximadamente el 40 % en peso) siendo el resto diversos vehículos o excipientes y coadyuvantes de procesamiento útiles para formar la forma de dosificación deseada.

20 Las formas líquidas adecuadas para la administración oral pueden incluir un vehículo acuoso o no acuoso adecuado con tampones, agentes de suspensión y dispersión, colorantes, sabores y similares. Las formas sólidas pueden incluir, por ejemplo, cualquiera de los siguientes ingredientes, o compuestos de una naturaleza similar: un aglutinante tal como celulosa microcristalina, goma de tragacanto o gelatina; un excipiente tal como almidón o lactosa, un agente disgregante tal como ácido algínico, Primogel o almidón de maíz; un lubricante tal como estearato de magnesio; una sustancia de deslizamiento tal como dióxido de silicio coloidal; un agente edulcorante tal como sacarosa o sacarina; o un agente aromatizante tal como menta, salicilato de metilo o aroma de naranja.

25 Las composiciones inyectables se basan normalmente en solución salina estéril inyectable o solución salina tamponada con fosfato u otros vehículos inyectables conocidos en la técnica. Como anteriormente, el compuesto activo en dichas composiciones es normalmente un componente minoritario, siendo con frecuencia de aproximadamente el 0,05 al 10 % en peso, siendo el resto el vehículo inyectable y similar.

30 Las composiciones transdérmicas se formulan normalmente como una pomada o crema tópica que contiene el ingrediente o ingredientes activos, generalmente en una cantidad que varía de aproximadamente el 0,01 a aproximadamente el 20 % en peso, preferentemente de aproximadamente el 0,1 a aproximadamente el 20 % en peso, preferentemente de aproximadamente el 0,1 a aproximadamente el 10 % en peso y más preferentemente de aproximadamente el 0,5 a aproximadamente el 15 % en peso. Cuando se formulan como una pomada, los principios activos normalmente se combinarán con una base de pomada ya sea parafínica o miscible en agua. Como alternativa, los principios activos pueden formularse en una crema con, por ejemplo, una base de crema aceite-en-agua. Dichas formulaciones transdérmicas son bien conocidas en la técnica y generalmente incluyen ingredientes adicionales para potenciar la penetración dérmica o la estabilidad de los principios activos o la formulación. Todas estas formulaciones transdérmicas e ingredientes conocidos se incluyen dentro del ámbito de la presente invención.

35 Los compuestos de la presente invención también pueden administrarse mediante un dispositivo transdérmico. En consecuencia, la administración transdérmica puede conseguirse usando un parche ya sea de tipo de depósito o de membrana porosa, o de una variedad de matriz sólida.

40 Los componentes descritos anteriormente para composiciones administrables por vía oral, administrables por vía inyectable o tópica, son meramente representativos. Otros materiales así como técnicas de procesamiento y similares se exponen en la Parte 8 de *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 17ª edición, 1985, Mack Publishing Company, Easton, Pensilvania, que se incorpora en el presente documento por referencia.

45 Los compuestos de la presente invención también pueden administrarse en formas de liberación sostenida o desde sistemas de liberación de fármacos de liberación sostenida. Una descripción de materiales de liberación sostenida representativos pueden encontrarse en *Remington's Pharmaceutical Sciences*.

50 Los siguientes ejemplos de formulación ilustran composiciones farmacéuticas representativas de la presente invención. La presente invención, sin embargo, no se limita a las siguientes composiciones farmacéuticas.

Formulación 1 - Comprimidos

55 Un compuesto de la invención se mezcló en forma de un polvo seco con un aglutinante de gelatina seca en una razón de peso aproximada de 1:2. Se añadió una cantidad minoritaria de estearato de magnesio como lubricante. La mezcla se conformó en comprimidos de 240-270 mg (80-90 mg de compuesto de amida activo por comprimido) en una prensa de comprimidos.

Formulación 2 - Cápsulas

Un compuesto de la invención se mezcló en forma de un polvo seco con un diluyente de almidón en una razón de peso aproximada de 1:1. La mezcla se cargó en cápsulas de 250 mg (125 mg de compuesto de amida activo por cápsula).

5 **Formulación 3 - Líquido**

Un compuesto de la invención (125 mg), sacarosa (1,75 g) y goma de xantano (4 mg) se mezclaron, se pasaron a través de un tamiz de los EE.UU. de N.º de malla 10 y, después, se mezclaron con una solución previamente fabricada de celulosa microcristalina y carboximetilcelulosa de sodio (11:89, 50 mg) en agua. Se diluyeron benzoato de sodio (10 mg), un aromatizante y un colorante con agua y se añadieron con agitación. Después, se añadió agua suficiente para producir un volumen total de 5 ml.

Formulación 4 - Comprimidos

Un compuesto de la invención se mezcló en forma de un polvo seco con un aglutinante de gelatina seca en una razón de peso aproximada de 1:2. Se añadió una cantidad minoritaria de estearato de magnesio como lubricante. La mezcla se conformó en comprimidos de 450-900 mg (150-300 mg de compuesto de amida activo) en una prensa de comprimidos.

Formulación 5 - Inyección

Un compuesto de la invención se disolvió o suspendió en un medio acuoso inyectable de solución salina estéril tamponada acuosa a una concentración de aproximadamente 5 mg/ml.

Formulación 6 - Tópica

20 Se fundieron alcohol estearílico (250 g) y vaselina filante (250 g) a aproximadamente 75 °C y después se añadió una mezcla de un compuesto de la invención (50 g), metilparabeno (0,25 g), propilparabeno (0,15 g), lauril sulfato de sodio (10 g) y propilenglicol (120 g) disueltos en agua (aproximadamente 370 g) y la mezcla resultante se agitó hasta que se congeló.

PROCEDIMIENTOS DE TRATAMIENTO

25 Los presentes compuestos se usan como agentes terapéuticos para el tratamiento de afecciones en mamíferos que se relacionan causalmente o son atribuibles a la actividad aberrante del receptor P2X₇. En consecuencia, los compuestos y composiciones farmacéuticas de la presente invención encuentran un uso como agentes terapéuticos para prevenir y/o tratar enfermedades autoinmunes, inflamatorias y cardiovasculares en mamíferos incluyendo los seres humanos.

30 En un aspecto de un procedimiento de tratamiento, la presente invención proporciona compuestos que se describen en el presente documento para su uso en un procedimiento de tratamiento de un mamífero susceptible de padecer o que padece una afección asociada a la artritis, la uveítis, el asma, el infarto de miocardio, la lesión cerebral traumática, la lesión medular aguda, la enfermedad inflamatoria intestinal y los trastornos autoinmunes, procedimiento que comprende administrar una cantidad eficaz de una o más de las composiciones farmacéuticas que se acaban de describir.

35 En otro aspecto más del procedimiento de tratamiento, la presente invención proporciona compuestos que se describen en el presente documento para su uso en un procedimiento de tratamiento de un mamífero susceptible de padecer o que padece una afección que da origen a respuestas dolorosas o que se relaciona con desequilibrios en el mantenimiento de la actividad basal de los nervios sensoriales. Los presentes aminos tienen uso como analgésicos para el tratamiento del dolor de causas o etiologías diversas, por ejemplo el dolor agudo, inflamatorio (tal como el dolor asociado a la osteoartritis y a la artritis reumatoide); diversos síndromes de dolor neuropático (tal como la neuralgia postherpética, la neuralgia del trigémino, la distrofia simpática refleja, la neuropatía diabética, el síndrome de Guillian Barre, la fibromialgia, el dolor del miembro fantasma, el dolor postmastectomía, la neuropatía periférica, la neuropatía por VIH y las neuropatías inducidas por quimioterapia y otras neuropatías iatrogénicas); el dolor visceral (tal como el asociado a la enfermedad por reflujo gastroesofágico, el síndrome del intestino irritable, la enfermedad inflamatoria intestinal, la pancreatitis y diversos trastornos ginecológicos y urológicos), el dolor dental y la cefalea (tal como la migraña, la cefalea en racimos y la cefalea tensional).

50 En aspectos adicionales del procedimiento de tratamiento, la presente invención proporciona compuestos para su uso en procedimientos de tratamiento de un mamífero susceptible de padecer o que padece enfermedades y trastornos neurodegenerativos tales como, por ejemplo, la enfermedad de Parkinson, la esclerosis múltiple; enfermedades y trastornos que dan como resultado o que están mediados por neuroinflamación tales como, por ejemplo la lesión cerebral traumática y la encefalitis; enfermedades y trastornos neuropsiquiátricos de origen central tales como, por ejemplo, la manía depresiva, la enfermedad bipolar, la ansiedad, la esquizofrenia, los trastornos de la alimentación, los trastornos del sueño y los trastornos de la cognición; epilepsia y trastornos convulsivos;

5 disfunción de próstata, vejiga e intestino tal como, por ejemplo, la incontinencia urinaria, el retardo miccional, la hipersensibilidad rectal, la incontinencia fecal, la hipertrofia prostática benigna y la enfermedad inflamatoria intestinal; enfermedades y trastornos respiratorios y de las vías respiratorias tales como, por ejemplo, la rinitis alérgica, el asma y la enfermedad de las vías respiratorias reactivas y la enfermedad pulmonar obstructiva crónica; enfermedades y trastornos que dan como resultado o que están mediados por inflamación, tales como, por ejemplo la artritis reumatoide y la osteoartritis, el infarto de miocardio, diversas enfermedades y trastornos autoinmunes, la uveítis y la aterosclerosis; picor/prurito tal como, por ejemplo, la psoriasis; obesidad; trastornos lipídicos; cáncer; presión sanguínea; lesión medular; y trastornos renales, el procedimiento comprende administrar una cantidad eficaz para tratar la afección o para prevenir la afección de una o más de las composiciones farmacéuticas que se acaban de describir.

10 Como un aspecto adicional de la invención se proporcionan los presentes compuestos para su uso como un producto farmacéutico, especialmente en un procedimiento para el tratamiento o prevención de las afecciones y enfermedades mencionadas anteriormente. También se proporciona en el presente documento el uso de los presentes compuestos en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o prevención de una de las condiciones y enfermedades mencionadas anteriormente.

15 Los niveles de dosis de inyección varían de aproximadamente 0,1 mg/kg/hora a por lo menos 10 mg/kg/hora, todo durante de aproximadamente 1 a aproximadamente 120 horas y especialmente de 24 a 96 horas. También puede administrarse un bolo de precarga de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 10 mg/kg, o más, para conseguir niveles adecuados de estado estacionario. No se espera que la dosis total máxima exceda de aproximadamente 2 g/día para un paciente humano de 40 a 80 kg.

20 Para la prevención y/o tratamiento de afecciones a largo plazo, tales como afecciones neurodegenerativas y autoinmunes, la pauta para el tratamiento por lo general se extiende a lo largo de muchos meses o años por lo que se prefiere la dosificación oral para la comodidad y la tolerancia del paciente. Con la dosificación oral, son pautas representativas de uno a cinco y en especial de dos a cuatro y normalmente tres dosis orales por día. Usando estos patrones de dosificación, cada dosis proporciona de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 20 mg/kg del compuesto de la invención, proporcionando las dosis preferidas, cada una, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 10 mg/kg y especialmente de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 mg/kg.

25 Generalmente se seleccionan dosis transdérmicas para proporcionar concentraciones en sangre similares o inferiores que las que se consiguen usando dosis de inyección.

30 Cuando se usan para prevenir la aparición de una afección neurodegenerativa, autoinmune o inflamatoria, los compuestos de la presente se administrarán a un paciente en riesgo de desarrollar la afección, normalmente con el consejo y bajo la supervisión de un médico, en los niveles de dosificación descritos anteriormente. Los pacientes en riesgo de desarrollar una afección particular incluyen generalmente los que tienen antecedentes familiares de la afección, o los que se han identificado, mediante detección o ensayo genético, que son particularmente susceptibles de desarrollar la afección.

35 Los compuestos de la presente invención pueden administrarse como el agente activo único o pueden administrarse en combinación con otros agentes, incluyendo otros compuestos que demuestren una actividad terapéutica igual o similar, y que se determine que son seguros y eficaces para dicha administración combinada.

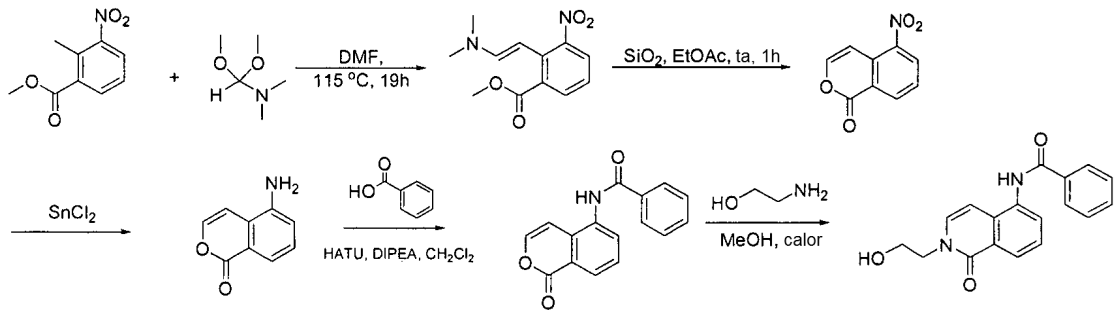
PROCEDIMIENTOS GENERALES DE SÍNTESIS

40 Los compuestos de bicicloheteroarilo de la presente invención pueden prepararse a partir de materiales de partida fácilmente disponibles usando los siguientes métodos y procedimientos generales. Se apreciará que, cuando se proporcionan condiciones de procedimiento típicas o preferidas (es decir, temperaturas de reacción, tiempos, relaciones molares de reactivos, disolventes, presiones, etc.), también pueden usarse otras condiciones de procedimiento a menos que se indique lo contrario. Las condiciones de reacción óptimas pueden variar con los reactivos o disolventes particulares utilizados, pero dichas condiciones pueden ser determinadas por un experto en la materia mediante procedimientos de optimización habituales.

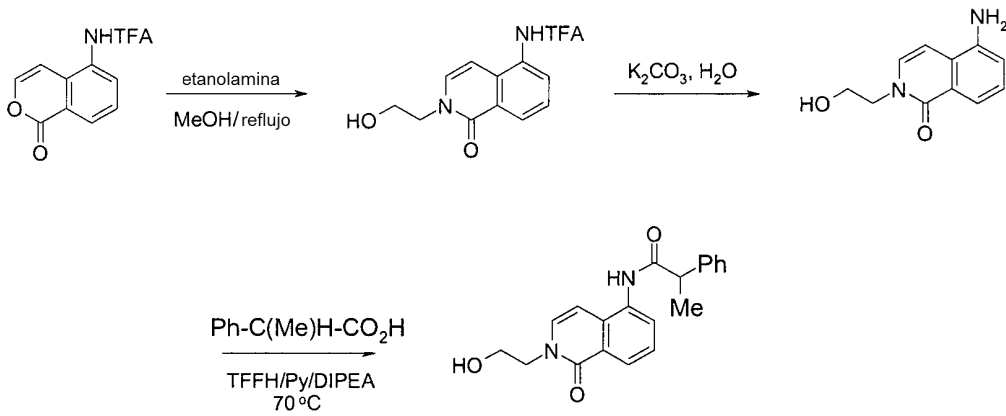
45 De forma adicional, como será evidente para los expertos en la materia, pueden necesitarse grupos protectores convencionales para evitar que ciertos grupos funcionales experimenten reacciones no deseadas. La elección de un grupo protector adecuado para un grupo funcional particular, así como las condiciones adecuadas para la protección y la desprotección son bien conocidas en la técnica. Por ejemplo, se describen numerosos grupos protectores y su introducción y retirada, en T. W. Greene y P. G. M. Wuts, *Protecting Groups in Organic Synthesis*, segunda edición, Wiley, Nueva York, 1991 y las referencias citadas en el mismo.

50 Los siguientes esquemas se presentan con detalles en cuanto a la preparación de los bicicloheteroarilos representativos que se han enumerado anteriormente. Los compuestos de la invención pueden prepararse a partir de materiales de partida y reactivos conocidos o disponibles en el mercado por un experto en la materia de la síntesis orgánica.

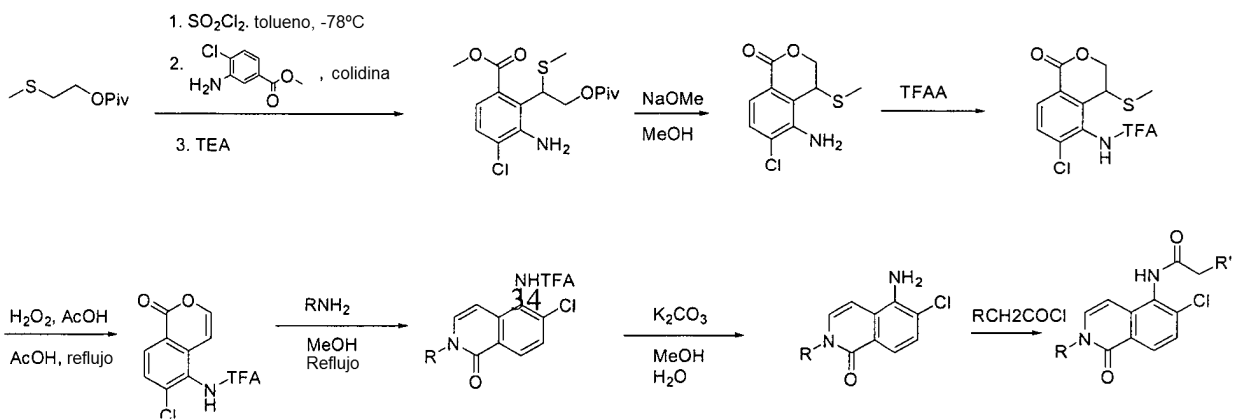
Esquema Representativo 1



Esquema Representativo 2

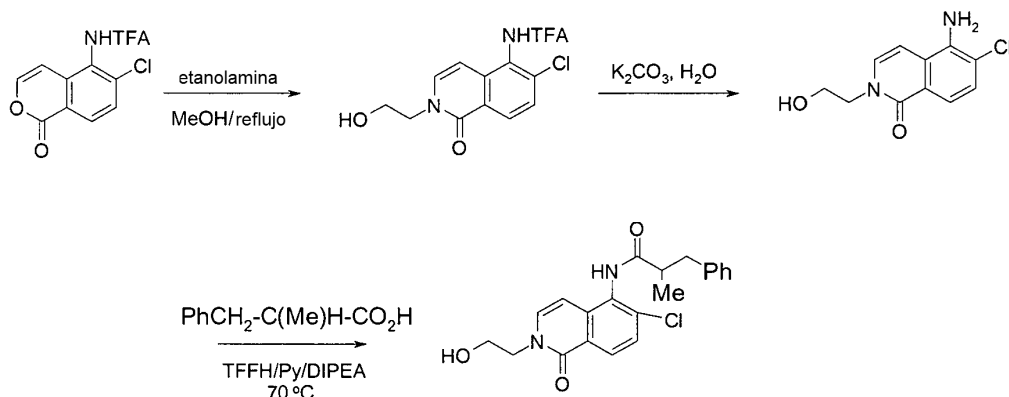


Esquema Representativo 3

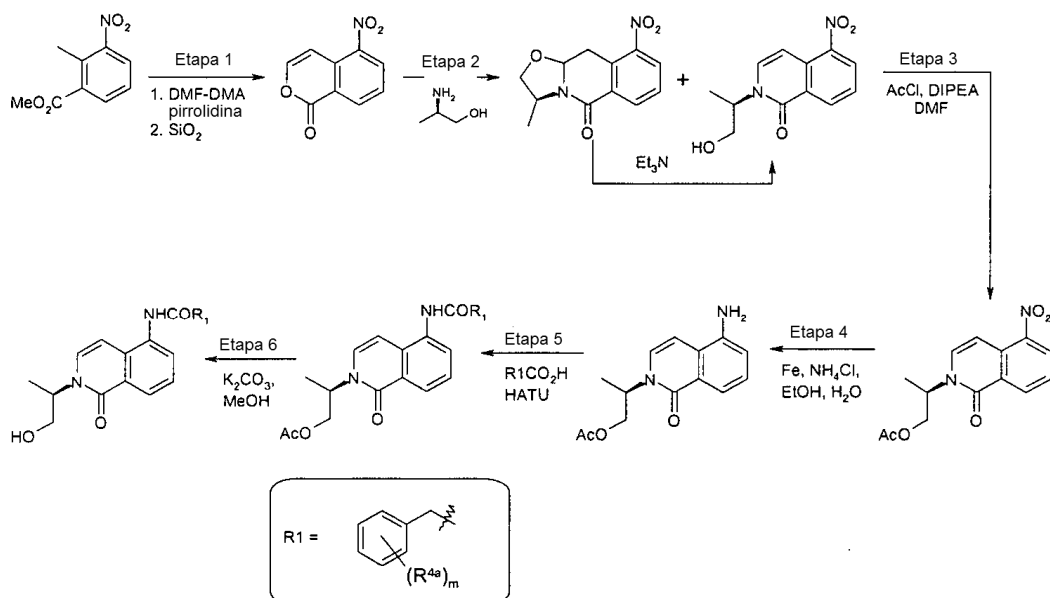


en el que $R' = R^1$ y $R = -L-R^3$.

Esquema Representativo 4



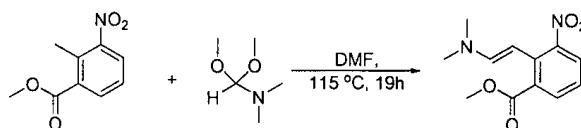
Esquema Representativo 5



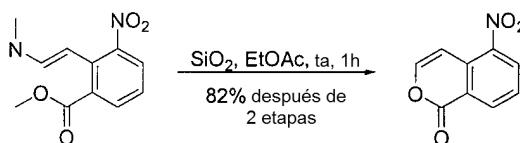
5 SÍNTESIS DE INTERMEDIOS

Intermedio 1

Preparación de 2-(2-(dimetilamino)vinil)-3-nitrobenzoato de (E)-metilo:



- 10 Una mezcla de 2-metil-3-nitrobenzoato de metilo (5,0 g, 25,6^ommol) y dimetil acetal de *N,N*-dimetilformamida (9,18 g, 77^ommol) en DMF (30 ml) se agitó a 115 °C durante 17 h. Los volátiles se retiraron a presión reducida para proporcionar 2-(2-(dimetilamino)vinil)-3-nitrobenzoato de (E)-metilo en forma de aceite de color marrón. RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 7,68 (m, 2H), 7,07 (t, *J* = 7,5 Hz, 1H), 6,32 (d, *J* = 13,5 Hz, 1H), 5,65 (d, *J* = 13,5 Hz, 1H), 3,85 (s, 3H), 2,82 (s, 6H).

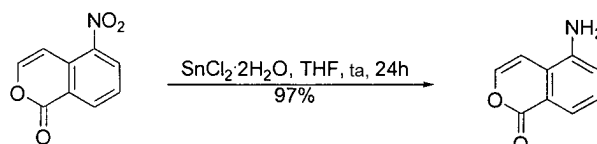
Intermedio 2**Preparación de 5-Nitro-1H-isocromen-1-ona:**

- 5 Se disolvió 2-(2-(dimetilamino)vinil)-3-nitrobenzoato de (E)-metilo en EtOAc (200 ml) y se añadió gel de sílice (200 g). La suspensión resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La solución de EtOAc se retiró por filtración. El gel de sílice se lavó con EtOAc (150 ml, 2 veces) y los extractos orgánicos combinados se evaporaron y se secaron a presión reducida para proporcionar 5-nitro-1H-isocromen-1-ona (4,0 g, 21,0^ommol, 82 % después de dos etapas) en forma de un sólido de color marrón.
- 10 RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 8,62 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 8,47 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 7,65 (m, 1H), 7,42 (d, J = 6,3 Hz, 1H), 7,36 (d, J = 6,3 Hz, 1H). Tiempo de retención de HPLC de 1,72 minutos, CH₃CN al 10-100 %, gradiente de 3,5 min; IEN-EM m/z 192,1 (M+H)⁺.

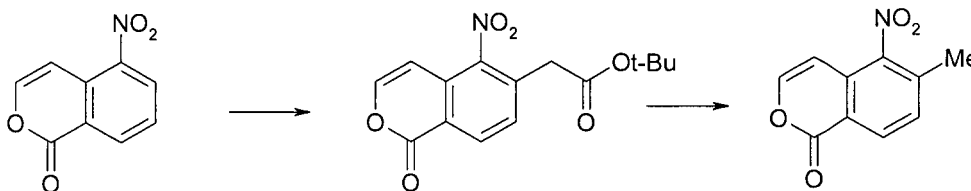
Puede encontrarse información adicional en McDonald, M. C. y col. *British J. Pharmacol.* 2000, 130, 843, incorporado en el presente documento por referencia.

Intermedio 3

- 15 **Preparación de 5-Amino-1H-isocromen-1-ona**



- 20 Se añadió dihidrato de cloruro de estaño(II) (41,9 g, 185,7^ommol) a una solución agitada de 5-nitro-1H-isocromen-1-ona (7,1 g, 37,1^ommol) en THF anhidro (120 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 18 h. La mezcla resultante se diluyó con EtOAc (400 ml) y se trató con bicarbonato de sodio acuoso saturado a pH = 10. Se añadió agua (100 ml) y las fases se separaron. La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (150 ml, 2 veces) y las fracciones orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se evaporaron para proporcionar 5-amino-1H-isocromen-1-ona (5,8 g, 36,0^ommol, 97 %) en forma de un sólido de color amarillo.
- 25 RMN-¹H (300 MHz, CD₃OD) δ 7,52 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 7,32 (d, J = 5,7 Hz, 1H), 7,27 (t, J = 7,8 Hz, 1H), 7,07 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 6,80 (d, J = 5,7 Hz, 1H). Tiempo de retención de HPLC de 1,16 minutos, CH₃CN al 10-100 %, gradiente de 3,5 min; IEN-EM m/z 162,3 (M+H)⁺. Puede encontrarse información adicional en Lee, B. S. y col.; *J. Org. Chem.* 2004, 69, 3319 incorporado en el presente documento por referencia.

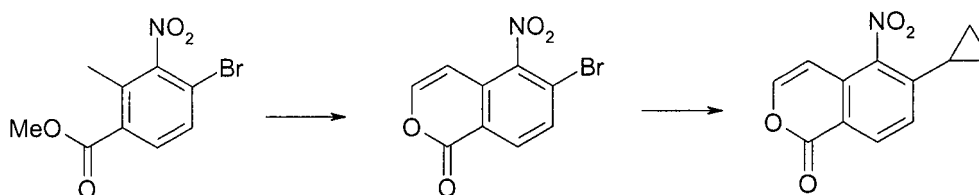
Intermedio 4**Preparación de 6-metil-5-nitro-1H-isocromen-1-ona:**

- 30 a. 2-(5-Nitro-1-oxo-1H-isocromen-6-il)acetato de (E)-terc-butilo

- 35 Un matraz de fondo redondo se cargó con *terc*-butóxido de potasio (4,4 g, 0,039 mol) y *N,N*-dimetilformamida (30 ml, 0,4 mol) y una solución éster cloro-1,1-dimetilético de ácido acético (2,5 ml, 0,017 mol) y se añadió 5-nitro-isocromen-1-ona (3,00 g, 0,0157 mol) en *N,N*-dimetilformamida (5 ml, 0,06 mol) a -20 °C lentamente durante un periodo de 40 minutos y la reacción se agitó durante otros 45 minutos a la misma temperatura. La mezcla de reacción se vertió en 4 ml de HCl y 80 ml de agua y se extrajo con DCM y se lavó con salmuera y se secó sobre Na₂SO₄. El disolvente se retiró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida para obtener el producto en forma de un aceite espeso claro. EM m/z = 306,4 (M+H).

b. 6-Metil-5-nitro-1H-isocromen-1-ona

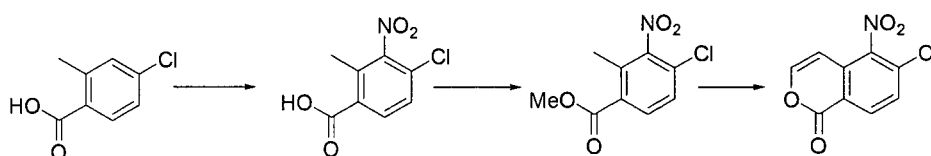
Un vial para microondas se cargó con 2-(5-nitro-1-oxo-1H-isocromen-6-il)acetato de (E)-*tert*-butilo (800,0 mg, 0,002620 mol), ácido trifluoroacético (2 ml, 0,02 mol) y se sometió a microondas a 100 °C durante 20 minutos. El material de partida se convirtió en el ácido correspondiente. Se retiró el TFA a presión reducida y el residuo se recogió de nuevo en un tubo para microondas y se añadió quinolina (2 ml, 0,02 mol) y se calentaron a 120 °C durante 20 minutos. La reacción se completó y se añadió acetato de etilo (50 ml) y se lavó con 10 ml de HCl 6 N. La fase de HCl se retiró con acetato de etilo (50 ml) y las fases orgánicas combinadas se lavaron con agua, salmuera y se secaron. El disolvente se retiró y el residuo sólido de color marrón se purificó mediante cromatografía ultrarrápida para proporcionar el producto puro en forma de un sólido de color blanco. EM m/z = 206,4 (M+H) RMN-¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8,29 (d, J = 8,19 Hz, 1H), 7,71-7,69 (m, 2H), 6,57 (d, J = 6,02 Hz, 1H), 2,45 (s, 3H).

Intermedio 5**Preparación de 6-ciclopropil-5-nitro-1H-isocromen-1-ona:****a. 6-Bromo-5-nitro-1H-isocromen-1-ona**

Un tubo a presión (150 ml) se cargó con 4-bromo-2-metil-3-nitrobenzoato de metilo (2,1 g, 0,0077 mol), 1,1-dimetoxi-*N,N*-dimetilmetanamina (3,6 ml, 0,027 mol) y *N,N*-dimetilformamida (5 ml, 0,06 mol) y se calentó a 120 °C durante 20 horas. La reacción proporcionó múltiples productos. El disolvente se retiró y el residuo se disolvió en acetato de etilo (100 ml, 1 mol). Después, se añadió gel de sílice (20 g, 0,3 mol) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 12 h. La reacción se filtró y el disolvente se retiró y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida. EM m/z = 271,2 (M+H).

b. 6-Ciclopropil-5-nitro-1H-isocromen-1-ona

Un vial para microondas se cargó con 6-bromo-5-nitro-1H-isocromen-1-ona (500,00 mg, 0,0018516 mol), ácido ciclopropilbórico (206,8 mg, 0,002407 mol), acetato de paladio (21 mg, 0,000092 mol), triciclohexilfosfina (52 mg, 0,00018 mol), fosfato de potasio (1,376 mg, 0,006481 mol), tolueno (10 ml, 0,09 mol) y agua y se calentó a 100 °C durante 30 minutos en microondas. Después, la mezcla de reacción se diluyó con agua y se extrajo con acetato de etilo. Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron y se evaporaron. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía ultrarrápida para obtener el producto. El producto era puro solamente al 65 % y se usó para sintetizar compuestos de 6-ciclopropilo de la presente invención sin purificación adicional. EM m/z = 232,3 (M+H). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ 8,22 (d, J = 8,63 Hz, 1H), 7,69 (d, J = 5,85 Hz, 1H), 7,33 (d, J = 8,47 Hz, 1H), 6,51 (d, J = 6,05 Hz, 1H), 1,96-1,89 (m, 1H), 1,19-1,14 (m, 2H), 0,97-0,93 (m, 2H).

Intermedio 6**Preparación de 6-cloro-5-nitro-1H-isocromen-1-ona****a. Ácido 4-cloro-2-metil-3-nitrobenzoico**

Un matraz de fondo redondo se cargó con ácido 4-cloro-2-metilbenzoico (200 mg, 0,001 mol) y ácido sulfúrico (1 ml, 0,02 mol). Se añadió ácido nítrico fumante (0,05 ml, 0,001 mol) a -20 °C y la reacción se agitó durante 1 hora a 70 °C y se vertió en agua enfriada con hielo en la que la mezcla de compuestos 2- y 4-nitro se separó por precipitación. El precipitado se filtró y se disolvió en acetato de etilo (30 ml) y se lavó con solución de bicarbonato de sodio acuosa saturada, salmuera y se secó sobre sulfato de sodio. El disolvente se redujo en un ¼ de volumen mediante lo cual el isómero no deseado se separó por precipitación. El precipitado se filtró y el filtrado se secó para obtener una mezcla 1:1 de isómeros en forma de un sólido de color blanco. EM m/z = 214,5 (m-H).

b. 4-Cloro-2-metil-3-nitrobenzoato de metilo

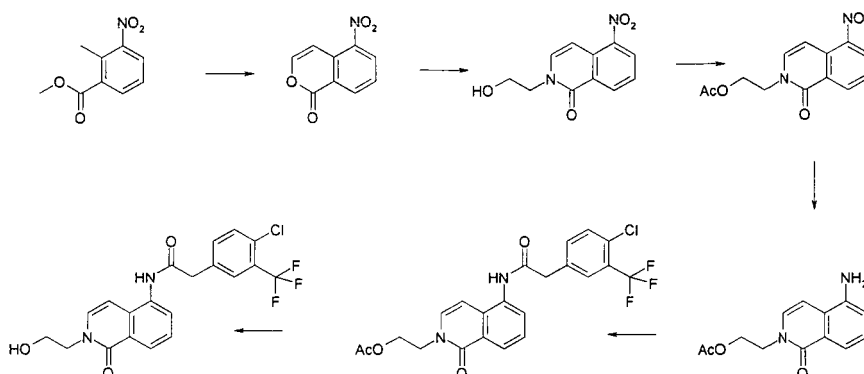
Un matraz de fondo redondo se cargó con ácido 4-cloro-2-metil-3-nitrobenzoico (11,00 g, 0,05102 mol) y metanol (110 ml, 2,7 mol) y se añadió cloruro de tionilo (4,5 ml, 0,061 mol) a 0 °C y la reacción se calentó a 75 °C durante 3 horas. El disolvente se retiró a presión reducida y el residuo se disolvió en acetato de etilo (300 ml) y se lavó con bicarbonato de sodio acuoso, agua y salmuera. Los extractos orgánicos se secaron sobre sulfato de sodio y el disolvente se retiró para recuperar los ésteres. EM m/z = 230,3 (M+H).

c. 6-Cloro-5-nitro-1H-isocromen-1-ona

Un tubo a presión se cargó con 4-cloro-2-metil-3-nitrobenzoato de metilo (13 g, 57°mmol), *N,N*-dimetilformamida (10 ml, 200°mmol) y 1,1-dimetoxi-*N,N*-dimetilmethanamine (26,5 ml, 200°mmol) y la reacción se calentó a 120 °C durante 20 h. Los disolventes se retiraron y el residuo de color marrón resultante se redisolvió en acetato de etilo (600 ml, 6,000°mmol) y se añadió gel de sílice 60A de retícula de 130-270 (500 g, 6,000°mmol) y la reacción se agitó con un agitador mecánico durante 8 h. El gel de sílice se retiró por filtración, se lavó con acetato de etilo (400 ml) y los extractos orgánicos se retiraron al vacío y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (330 g, acetato de etilo al 2-50 %/hexano) para obtener los dos isómeros en rendimientos del 14 % cada uno con una pureza de casi el 98 %. EM m/z = 226,2 (M+H). RMN ¹H (400 MHz; DMSO-d₆) δ 8,35 (d, *J* = 8,63 Hz, 1H), 7,95 (d, *J* = 8,63 Hz, 1H), 7,76 (d, *J* = 5,91 Hz, 1H), 6,61 (d, *J* = 6,04 Hz, 1H).

PROCEDIMIENTOS DE SÍNTESIS REPRESENTATIVOS**Procedimiento A**

(Compuesto 65)

20 2-(4-Cloro-3-trifluorometil-fenil)-N-[2-(2-hidroxi-etil)-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-acetamida**a. 5-Nitro-isocromen-1-ona**

Se disolvieron 2-metil-3-nitrobenzoato de metilo (5 g, 0,02 mol) y 1,1-dimetoxi-*N,N*-dimetilmethanamina (10 ml, 0,07 mol) en *N,N*-dimetilformamida (30 ml, 0,4 mol). La mezcla se agitó a 115 °C durante 17 horas. Los volátiles se retiraron en un rotavapor. El residuo se disolvió en acetato de etilo (400 ml) y después se añadió gel de sílice (400 g). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas, se filtró, se aclaró con acetato de etilo (400 ml, 3 veces). Los filtrados combinados se concentraron a sequedad para obtener un sólido de color marrón (3,6 g). EM m/z = 192,0 (M+1).

b. 2-(2-hidroxi-etil)-5-nitroisoquinolin-1(2H)-ona

Se suspendió 5-nitro-isocromen-1-ona (3,60 g, 0,0170 mol) en metanol (40 ml), se añadió etanolamina (3,11 g, 0,0508 mol) y la mezcla de reacción se agitó a 70 °C durante 2 h en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se añadió trietilamina (5 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 días. El sólido resultante se retiró por filtración (se obtuvo un sólido de color amarillo como el producto deseado, 0,9 g). El filtrado se concentró y el residuo se disolvió en acetato de etilo, se lavó con agua y salmuera, se secó sobre sulfato de sodio. Se retiró el disolvente para obtener el producto en forma de un sólido de color amarillo (1,3 g). EM m/z = 235,1 (M+1).

c. Acetato de 2-(5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)etilo

Se disolvió 2-(2-hidroxi-etil)-5-nitroisoquinolin-1(2H)-ona (2,2 g, 0,0089 mol) en la mezcla de cloruro de metileno (20 ml) y *N,N*-dimetilformamida (10 ml), se añadieron *N,N*-diisopropiletilamina (2,33 ml, 0,0134 mol) y cloruro de acetilo (1,06 g, 0,0134 mol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. Los volátiles se retiraron y el residuo se lavó con agua y después con éter dietílico para obtener el producto en forma de un sólido de color amarillo claro (2,45 g). EM m/z = 277,0 (M+1).

d. Acetato de 2-(5-amino-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)etilo

Se disolvió acetato de 2-(5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)etilo (2,45 g, 0,00842 mol) en metanol (100 ml), se añadió paladio sobre carbón vegetal (10 %) y la mezcla de reacción se agitó en una atmósfera de hidrógeno durante 1 hora. La mezcla se filtró a través de celite y el disolvente se retiró. El producto se obtuvo en forma de un sólido de color naranja claro (1,98 g). EM m/z = 246,5(M+1).

5

e. Éster 2-5-[2-(4-cloro-3-trifluorometil-fenil)-acetilamino]-1-oxo-1H-isoquinolin-2-il-etílico de ácido acético

La solución de ácido 2-(4-cloro-3-(trifluorometil)fenil)acético (131 mg, 0,000548 mol) en cloruro de tionilo (5 ml) se agitó a 60 °C durante 1 hora. El cloruro de tionilo se retiró y el residuo se disolvió en tetrahidrofurano (5 ml). Se añadieron acetato de 2-(5-amino-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)etilo (100,0 mg, 0,0003655 mol) y *N,N*-diisopropiletilamina (95,5 µl, 0,000548 mol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Los volátiles se retiraron, el residuo se disolvió en acetato de etilo, se lavó con agua, HCl diluido y salmuera y se purificó por columna. El producto se obtuvo en forma de un sólido de color beige (65 mg). EM m/z = 467,4 (M+1). RMN ¹H (DMSO-d₆) δ 10,11 (s, 1H), 8,08 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,90 (s, 1H), 7,84 (d, *J* = 7,0 Hz, 1H), 7,75-7,65 (m, 2H), 7,55-7,42 (m, 2H), 6,69 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 4,33 (t, *J* = 5,1 Hz, 2H), 4,20 (t, *J* = 5,1 Hz, 2H), 3,92 (s, 2H), 1,96 (s, 3H).

10

f. 2-(4-Cloro-3-(trifluorometil)fenil)-N-(1,2-dihidro-2-(2-hidroxi-etil)-1-oxoisoquinolin-5-il)acetamida

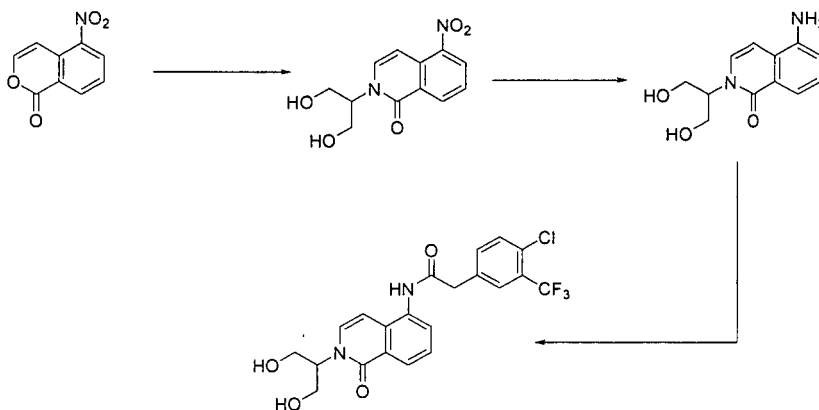
Se disolvió éster 2-5-[2-(4-cloro-3-trifluorometil-fenil)-acetilamino]-1-oxo-1H-isoquinolin-2-il-etílico de ácido acético (55,0 mg, 0,000111 mol) en metanol (5 ml) y se añadió solución de hidróxido de sodio 2 N acuosa (5 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Se retiró el metanol y el sólido formado de este modo se filtró, se lavó con agua y se secó en un horno de vacío. El producto se obtuvo en forma de un sólido de color beige (45 mg). EM m/z = 425,2 (M+1). RMN ¹H (DMSO-d₆) δ 10,10 (s, 1H), 8,08 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 7,89 (s, 1H), 7,82 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,78-7,62 (m, 2H), 7,55-7,40 (m, 2H), 6,65 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H), 4,89 (s, 1H), 4,02 (t, *J* = 5,2 Hz, 2H), 3,92 (s, 2H), 3,67 (t, *J* = 5,2 Hz, 2H).

20

Procedimiento B

(Compuesto 81)

25 **2-(4-Cloro-3-trifluorometil-fenil)-N-[2-(2-hidroxi-1-hidroximetil-etil)-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-acetamida**



a. 2-(1,3-Dihidroxiopropan-2-il)-5-nitroisoquinolin-1(2H)-ona

Se calentaron a reflujo 5-nitro-isocromen-1-ona (4,2 g, 0,022 mol) y Serinol (2,0 g, 0,022 mol) en metanol (40 ml, 1 mol) durante 1 hora. La TLC mostró que todo el material de partida se había consumido. Se añadió trietilamina (5 ml, 0,04 mol) a la mezcla y la mezcla de reacción se calentó a reflujo durante la noche. Los volátiles se retiraron por medio de un rotavapor y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida (40 g de gel de sílice, EtOAc al 0-50 %/hexano) y proporcionaron un sólido de color verde amarillo. EM m/z = 264,7 (M+1).

30

b. 5-Amino-2-(1,3-dihidroxiopropan-2-il)isoquinolin-1(2H)-ona

Se agitó 2-(1,3-dihidroxiopropan-2-il)-5-nitroisoquinolin-1(2H)-ona (1,2 g, 0,0045 mol) con paladio al 10 % en peso en carbonato de calcio (0,1 g, 0,0005 mol) en metanol (100 ml, 2 mol) en atmósfera de hidrógeno (globo) durante 1 hora a temperatura ambiente. El catalizador se filtró, el filtrado se concentró a sequedad y proporcionó un aceite de color verde claro. EM m/z = 235,0 (M+1).

35

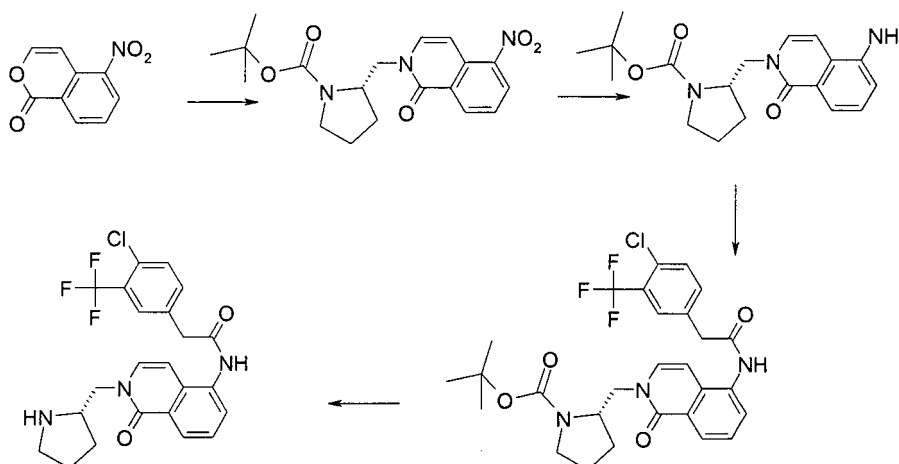
c. 2-(4-Cloro-3-(trifluorometil)fenil)-N-(2-(1,3-dihidroxiopropan-2-il)-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-5-il)acetamida

A una solución de 5-amino-2-(1,3-dihidroxiopropan-2-il)isoquinolin-1(2H)-ona (100,0 mg, 0,0004055 mol) en *N,N*-dimetilformamida (8 ml, 0,1 mol) se le añadieron ácido 2-(4-cloro-3-(trifluorometil)fenil)acético (378,0 mg, 0,001584 mol), hexafluorofosfato de *N,N,N',N'*-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio (448,0 mg, 0,001178 mol) y *N,N*-diisopropiletilamina (600,0 µl, 0,003445 mol). La mezcla de reacción se agitó durante 16 horas a 50 °C. Después de que la mayor parte de la DMF se evaporara en el rotavapor, se añadieron MeOH (20 ml) y NaOH 2 N (5 ml) al residuo. La solución se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente. El MeOH se evaporó en el rotavapor y se añadió EtOAc (100 ml) y después la solución resultante se lavó con agua (100 ml, 2 veces), NaHCO₃ saturado, H₂O y salmuera. La fase de EtOAc se secó mediante MgSO₄ y se evaporó en el rotavapor. La solución resultante se lavó con DCM y después se purificó con gel de sílice. El producto final se obtuvo en forma de un sólido. EM m/z = 455,1 (M+1). RMN ¹H (400 MHz; DMSO-d₆) δ 10,09 (s, 1H), 8,09 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,89 (s, 1H), 7,80 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 7,75-7,65 (m, 2H), 7,55-7,40 (m, 2H), 6,63 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 4,98-4,85 (m, 3H), 3,92 (s, 2H), 3,85-3,65 (m, 4H).

Procedimiento C

15 (Compuesto 232, no de la invención)

2-(4-Cloro-3-trifluorometil-fenil)-N-(1-oxo-2-(S)-1-pirrolidin-2-ilmetil-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il)-acetamida



a. 2-((5-Nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)metil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)-terc-butilo

20 En un matraz de fondo redondo se combinaron 5-nitro-isocromen-1-ona (3,50 g, 0,0165 mol), 2-(aminometil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)-terc-butilo (4,12 g, 0,0206 mol) y metanol (100,0 ml, 2,469 mol). La mezcla se calentó a reflujo durante 2 horas. La mezcla se dejó enfriar y los volátiles se retiraron a presión reducida, el aceite en bruto se sometió a cromatografía usando un gradiente de cloruro de metileno:metanol (0-10 %). Las fracciones puras combinadas se redujeron al vacío para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo.

25 b. 2-((5-Amino-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)metil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)-terc-butilo

30 En un matraz de fondo redondo se combinaron 2-((5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)metil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)-terc-butilo (1,54 g, 0,00412 mol), paladio sobre C (0,04 g, 0,0004 mol) y metanol (60 ml, 1 mol). El matraz se purgó y se evacuó tres veces con hidrógeno. La mezcla se dejó en agitación a temperatura ambiente en 1 atm durante tres horas. La mezcla se filtró sobre un lecho de celite y el filtrado se redujo al vacío para proporcionar un aceite de color marrón claro que se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice usando un gradiente de cloruro de metileno:metanol (0-10 %). Las fracciones puras combinadas se redujeron al vacío para proporcionar un sólido de color castaño.

c. 2-((5-(2-(4-Cloro-3-(trifluorometil)fenil)acetamido)-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)metil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)-terc-butilo

35 A una solución de 2-((5-amino-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)metil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)-terc-butilo (248,0 mg, 0,0006860 mol) en *N,N*-dimetilformamida (10 ml, 0,1 mol) se le añadieron ácido 2-(4-cloro-2-(trifluorometil)fenil)acético (350,0 mg, 0,001467 mol), hexafluorofosfato de *N,N,N',N'*-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio (530,0 mg, 0,001394 mol) y *N,N*-diisopropiletilamina (488,0 µl, 0,002802 mol). La mezcla de reacción se agitó durante 16 horas a 50 °C. Se comprobó la CL/EM y reveló que la reacción se había completado. Se añadió EtOAc (100 ml) y la solución resultante se lavó con agua (100 ml, 2 veces), NaHCO₃ sat., H₂O y salmuera. La fase de EtOAc se secó con MgSO₄ y se evaporó en el rotavapor. El residuo de color amarillo se purificó mediante

columna de gel de sílice.

d. 2-(4-Cloro-3-(trifluorometil)fenil)-N-(1,2-dihidro-1-oxo-2-(((S)-pirrolidin-2-il)metil)isoquinolin-5-il)acetamida

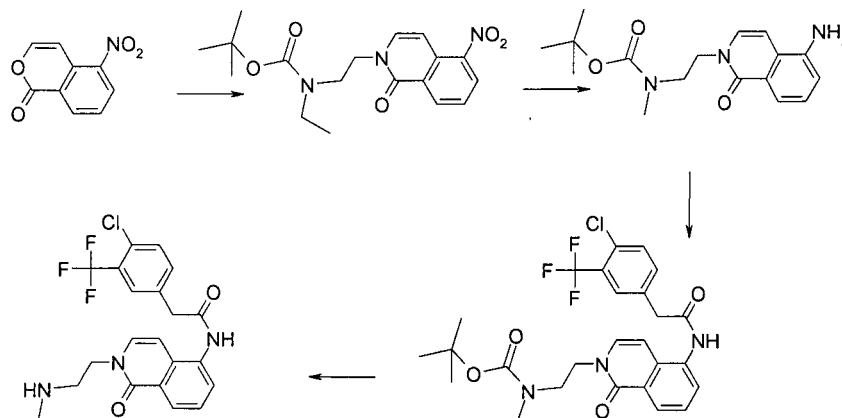
En un recipiente de 20 ml de reacción se combinaron 2-((5-(2-(4-cloro-3-(trifluorometil)fenil)acetamido)-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)metil)pirrolidin-1-carboxilato de (S) *terc*-butilo (20,0 mg, 0,000355 mol) y 1,4-dioxano (5 ml, 0,06 mol). Se añadió gota a gota cloruro de hidrógeno (0,016 g, 0,00044 moles) como una solución 2,0 M en éter. La reacción se dejó en agitación durante la noche. Se había formado un precipitado de color blanco y se filtró, se lavó con éter y se secó. El producto se disolvió en dietilamina y DMSO (1 ml) y se purificó mediante HPLC usando una columna C18 rellena Phenomenex AXIA (100 × 21,2 10 micrómetros) a pH 10. Las fracciones puras combinadas se redujeron al vacío para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanco. CL/EM M+H = 464,2.

RMN-¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10,21 (s, 1H), 8,98 (d, 1H, *J* = 93,24 Hz), 8,10 (d, 1H, *J* = 8,03 Hz), 7,90 (s, 1H), 7,85 (dd, 1H, *J* = 7,85 Hz), 7,73-7,68 (m, 2H), 7,60 (d, 1H, *J* = 7,67 Hz), 7,50 (t, 1H, *J* = 7,96 Hz), 6,76 (d, 1H, *J* = 7,65 Hz), 4,36-4,22 (m, 2H), 3,94 (s, 2H), 3,80 (s a, 1H), 3,29-3,24 (m, 1H), 3,12-3,06 (m, 1H), 2,15-2,7 (m, 1H), 1,99-1,86 (m, 2H), 1,74-1,64 (m, 1H).

15 Procedimiento D

(Compuesto 235)

2-(4-Cloro-3-trifluorometil-fenil)-N-[2-(2-metilamino-etil)-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-acetamida



a. 2-(5-Nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)etilcarbamato de *terc*-butil metilo

En un matraz de fondo redondo, se combinaron 5-nitro-isocromen-1-ona (5,00 g, 0,0235 mol), 2-aminoetilmetilcarbamato de *terc*-butilo (7,18 g, 0,0412 mol), *N,N*-diisopropiletilamina (4,92 ml, 0,0282 mol) y metanol (150 ml, 3,7 mol). La mezcla se calentó a reflujo durante 3 horas. El contenido se dejó enfriar, se redujo al vacío y se recogió en cloruro de metileno (250 ml) y se lavó con agua y salmuera a partes iguales. La fase orgánica se separó, se secó sobre sulfato de sodio y se redujo al vacío. La mezcla se purificó mediante cromatografía en columna usando un gradiente de metanol:cloruro de metileno (0-5 %). Las fracciones puras combinadas se redujeron al vacío para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color naranja.

b. 2-(5-Amino-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)etil(metil)carbamato de *terc*-butilo

En un matraz de fondo redondo de 500 ml se combinaron 2-(5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)etilcarbamato de *terc*-butil metilo (4,25 g, 0,0122 mol), metanol y paladio sobre C (0,1 g, 0,001 mol). El matraz se purgó y se evacuó con hidrógeno 3 veces. La mezcla se agitó a temperatura ambiente en atmósfera de hidrógeno (1 atm). El matraz se evacuó y el contenido se filtró sobre celita. El filtrado se redujo al vacío para proporcionar un aceite de color naranja. El aceite se purificó mediante cromatografía en columna usando un gradiente de metanol:cloruro de metileno (0-5 %). Las fracciones puras combinadas se redujeron al vacío para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color naranja claro.

c. Éster *terc*-butílico del ácido (2-5-[2-(4-cloro-3-trifluorometil-fenil)-acetilamino]-1-oxo-1H-isoquinolin-2-il-etil)-metil-carbámico

En un recipiente de reacción de 20 ml se combinaron 2-(5-amino-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)etil(metil)carbamato de *terc*-butilo (150 mg, 0,00045 mol), ácido 2-(4-cloro-3-trifluorometil)fenil)acético (0,214 g, 0,000898 mol), hexafluorofosfato de *N,N,N',N'*-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio (427 mg, 0,00112 mol), *N,N*-diisopropiletilamina (391 µl, 0,00224 mol) y *N,N*-dimetilformamida (0,03 ml, 0,0004 mol). La mezcla se calentó a 50 °C durante dos horas, se dejó enfriar y se vertió en bicarbonato de sodio sat. (200 ml). La mezcla se extrajo con cloruro de metileno (100 ml, 3 veces). Los extractos combinados se secaron sobre sulfato de sodio y se redujeron al

vacío. La mezcla se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa usando un gradiente de acetonitrilo:agua a pH 10. Las fracciones puras combinadas se redujeron al vacío para proporcionar el compuesto en forma de un sólido de color blanquecino.

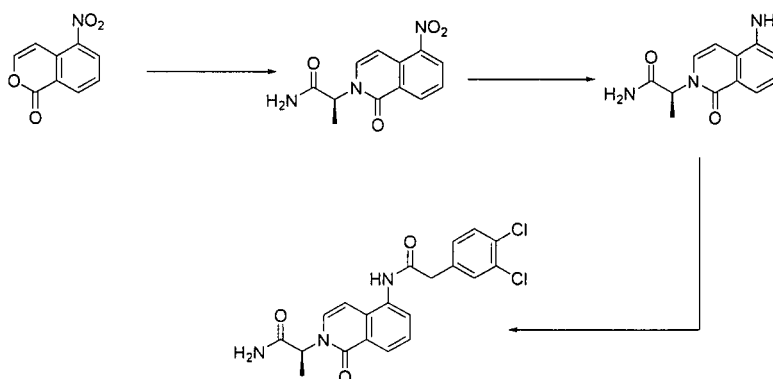
d. Clorhidrato de 2-(4-cloro-3-trifluorometil-fenil)-N-[2-(2-metilamino-etil)-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-5-il]-acetamida

- 5 En un recipiente de reacción de 20 ml se combinaron éster *terc*-butílico del ácido (2-5-[2-(4-cloro-3-trifluorometil-fenil)acetilamino]-1-oxo-1H-isoquinolin-2-il-etil)-metil-carbámico (126 mg, 0,000234 mol) y 1,4-dioxano (5 ml, 0,06 mol). Se añadió gota a gota cloruro de hidrógeno (20 mg, 0,00054 mol) como una solución 2,0 M en éter. La reacción se dejó en agitación durante la noche. Se había formado un precipitado de color blanco y se filtró, se lavó con éter y se secó para proporcionar el compuesto del título. CL/EM M+H = 438,2.
- 10 RMN-¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10,22 (s, 1H), 8,64 (s a, 1H), 8,09 (d, 1H, J = 8,14 Hz), 7,90 (s, 1H), 7,83 (d, 1H, J = 7,76 Hz), 7,73-7,68 (m, 2H), 7,51-7,47 (m, 2H), 6,74 (d, 1H, 7,57 Hz), 4,26 (t, 2H, J = 5,74 Hz), 3,94 (s, 2H), 3,31-3,25 (m, 2H), 2,57 (t, 3H, J = 5,28).

Procedimiento E

(Compuesto 236)

- 15 **(S)-2-[5-[2-(3,4-Dicloro-fenil)-acetilamino]-1-oxo-1H-isoquinolin-2-il]-propionamida**



a. (S)-2-(5-Nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanamida

- A una solución de 5-nitro-isocromen-1-ona (1,5 g, 0,0078 mol) en metanol (20 ml, 0,4 mol) se le añadieron trietilamina (2 ml, 0,02 mol) y hidrobromuro de (S)-2-aminopropanamida (1,6 g, 0,0094 mol) y la mezcla resultante se calentó a 50 °C durante la noche. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente en la que el producto precipitó. El precipitado se filtró y se secó para proporcionar el producto puro en forma de un sólido de color amarillo. EM m/z = 262,2 (M+H).
- 20

b. (S)-2-(5-Amino-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanamida

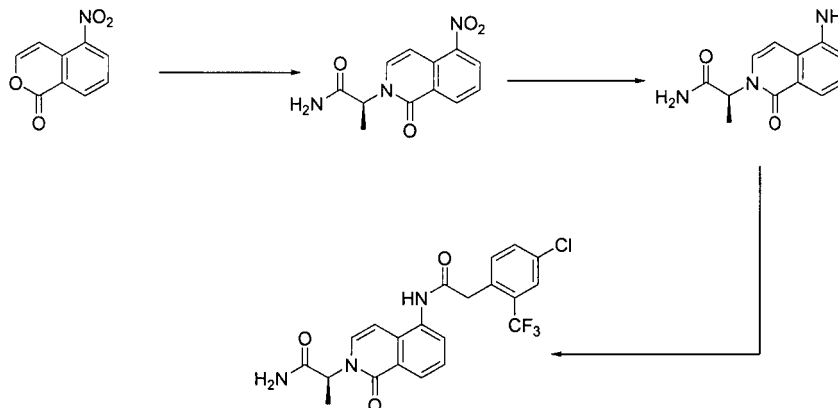
- A una solución de (S)-2-(5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanamida (1,3 g, 0,0050 mol) en metanol (40 ml, 1 mol) y diclorometano (5 ml) se le añadió paladio sobre carbón vegetal (0,2 g, 0,001 mol) y se agitaron en atmósfera de hidrógeno (1 atm) durante 2 h. La mezcla de reacción se filtró sobre celite y el filtrado se retiró a presión reducida para producir el producto puro en forma de un sólido de color blanco. EM m/z = 232,5 (M+H).
- 25

c. (S)-2-(5-(2-(3,4-diclorofenil)acetamido)-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanamida

- A una solución agitada de ácido 3,4-diclorofenil acético (0,12 g, 0,00056 mol), hexafluorofosfato de *N,N,N',N'*-tetrametil-O-(7-aza-benzotriazol-1-il)uronio (0,3 g, 0,0009 mol) y *N,N*-diisopropiletilamina (0,2 ml, 0,0009 mol) en *N,N*-dimetilformamida (5 ml, 0,06 mol) se le añadió (S)-2-(5-amino-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanamida (0,10 g, 0,00043 mol). La reacción se agitó durante 16 h a temperatura ambiente. La reacción se inactivó con agua, se extrajo con diclorometano, se lavó con HCl 2 N, solución de bicarbonato de sodio saturada, salmuera y se secó sobre sulfato de sodio. El disolvente se retiró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (12 g, MeOH al 0-10 %/DCM) para proporcionar el producto en forma de un sólido de color blanco. EM m/z = 419,2 (M+H). RMN ¹H (400 MHz; DMSO-d₆) δ 10,08 (s, 1H), 8,07 (d, J = 8,42 Hz, 1H), 7,82 (d, J = 8,42 Hz, 1H), 7,66-7,61 (m, 3H), 7,48-7,43 (m, 2H), 7,38 (d, J = 9,08 Hz, 1H), 7,23 (s a, 1H), 6,67 (d, J = 8,42 Hz, 1H), 5,50-5,45 (c, J = 7,24 Hz, 1H), 3,82 (s, 2H), 1,54 (d, J = 7,50 Hz, 3H).
- 30
- 35

Procedimiento F

(Compuesto 237)

(S)-2-[5-[2-(4-Cloro-2-trifluorometil-fenil)-acetilamino]-1-oxo-1H-isoquinolin-2-il]-propionamida5 **a. (S)-2-(5-Nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanamida**

Un matraz de fondo redondo se cargó con 5-nitro-isocromen-1-ona (1,5 g, 0,0078 mol), metanol (20 ml, 0,4 mol), trietilamina (2 ml, 0,02 mol) y hidrobromuro de (S)-2-aminopropanamida (1,6 g, 0,0094 mol) y la reacción se calentó a 50 °C durante la noche. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente en la que el producto precipitó. El precipitado se filtró y se secó para proporcionar el producto puro en forma de un sólido de color amarillo. EM m/z = 262,2 (M+H).

10

b. (S)-2-(5-Amino-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanamida

Un matraz de fondo redondo se cargó con (S)-2-(5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanamida (1,3 g, 0,0050 mol), metanol (40 ml, 1 mol), se añadieron diclorometano (5 ml) y paladio sobre carbón vegetal (0,2 g, 0,001 mol) y la mezcla se agitó en atmósfera de hidrógeno (1 atm) durante 2 h. la mezcla de reacción se filtró sobre celite y el disolvente se retiró a presión reducida para proporcionar el producto puro en forma de un sólido de color blanco. EM m/z = 232,5 (M+H).

15

c. (S)-2-(5-(2-(4-Cloro-2-(trifluorometil)fenil)acetamido)-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanamida

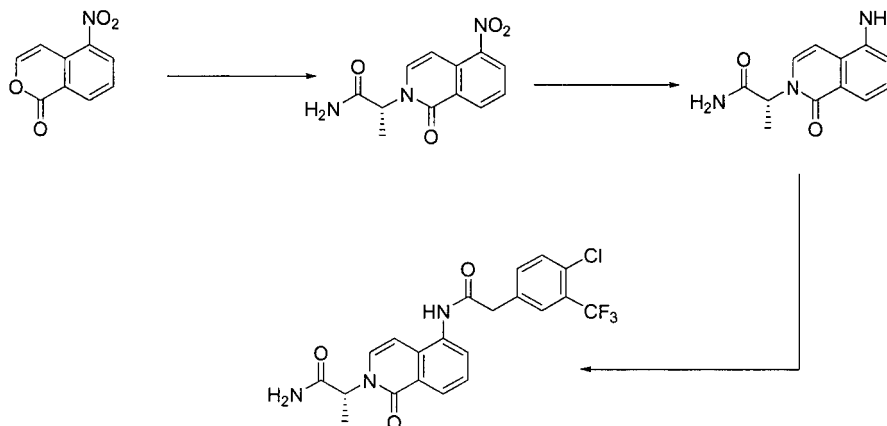
Un matraz de fondo redondo se cargó con ácido 2-(4-cloro-2-(trifluorometil)fenil)acético (0,13 g, 0,00056 mol), hexafluorofosfato de *N,N,N',N'*-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio (0,3 g, 0,0009 mol), *N,N*-diisopropiletilamina (0,2 ml, 0,0009 mol), *N,N*-dimetilformamida (5 ml, 0,06 mol) y (S)-2-(5-amino-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanamida (0,1 g, 0,0004 mol) y la reacción se agitó durante 16 h a temperatura ambiente. La reacción se inactivó con agua y se extrajo con diclorometano, se lavó con HCl 2 N, solución de bicarbonato de sodio saturada, salmuera y se secó sobre sulfato de sodio. El disolvente se retiró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (12 g, MeOH al 0-10 %/DCM) para proporcionar el producto en forma de un sólido de color blanco. EM m/z = 452,4 (M+H). RMN ¹H (400 MHz; DMSO-d₆) δ 10,11 (s, 1H), 8,07 (d, *J* = 8,80 Hz, 1H), 7,79-7,76 (m, 3H), 7,64-7,60 (m, 2H), 7,49 (d, *J* = 8,08 Hz, 1H), 7,45 (t, *J* = 7,7 Hz, 1H), 7,23 (s, 1H), 6,71 (d, *J* = 7,77 Hz, 1H), 5,50-5,45 (c, *J* = 7,24 Hz, 1H), 4,06 (s, 2H), 1,55 (d, *J* = 7,54 Hz, 3H).

20

25

Procedimiento G

(Compuesto 238)

(R)-2-{5-[2-(4-Cloro-3-trifluorometil-fenil)-acetilamino]-1-oxo-1H-isoquinolin-2-il]-propanamida5 **a. (R)-2-(5-Nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanamida**

Un matraz de fondo redondo se cargó con 5-nitro-isocromen-1-ona (2 g, 0,01 mol), metanol (40 ml, 1 mol), clorhidrato de (R)-2-aminopropanamida (2,0 g, 0,016 mol) y trietilamina (2,6 ml, 0,019 mol) y se agitó a 52 °C durante 3 horas. El producto (sólido de color amarillo) separado por precipitación se filtró y se llevó a la siguiente reacción sin ninguna purificación adicional. EM m/z = 262,3 (M+H).

10 **b. (R)-2-(5-Amino-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanamida**

Un matraz de fondo redondo se cargó con (R)-2-(5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanamida (5,0 g, 0,018 mol), paladio sobre carbón vegetal (10 %) (0,3 g, 0,003 mol) y metanol (200 ml, 5 mol) y acetato de etilo (80 ml). La mezcla de reacción se agitó en atmósfera de hidrógeno (1 atm) a temperatura ambiente durante 40 minutos. La mezcla se filtró sobre celite, el disolvente se retiró para proporcionar el producto en forma de un sólido de color amarillo claro. EM m/z = 232,3 (M+H).

15

c. (R)-2-(5-(2-(4-Cloro-3-(trifluorometil)fenil)acetamido)-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanamida

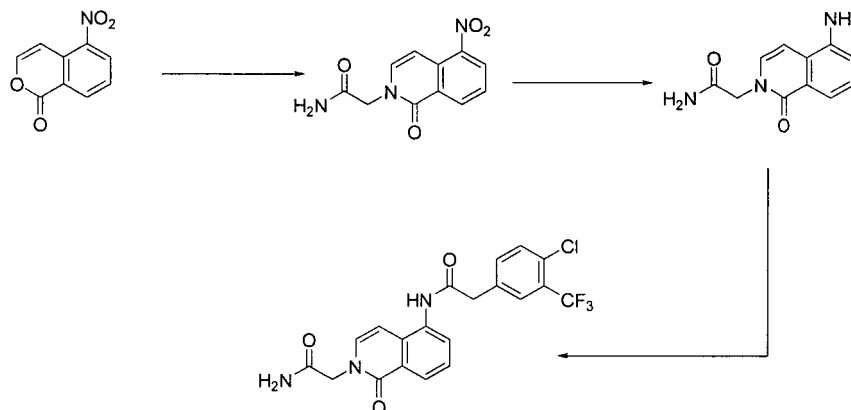
Un matraz de fondo redondo se cargó con ácido 2-(4-cloro-3-(trifluorometil)fenil)acético (0,13 g, 0,00056 mol), hexafluorofosfato de *N,N,N',N'*-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio (0,3 g, 0,0009 mol), *N,N*-diisopropiletilamina (0,2 ml, 0,0009 mol), *N,N*-dimetilformamida (3 ml, 0,04 mol) y (R)-2-(5-amino-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanamida (0,1 g, 0,0004 mol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. El disolvente se retiró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (12 g, MeOH al 0-10 %/DCM) para obtener el producto en forma de un sólido de color blanco. EM m/z = 451,8 (M+H). RMN ¹H (400 MHz; DMSO-d₆) δ 10,10 (s, 1H), 8,07 (d, *J* = 8,42 Hz, 1H), 7,89 (s, 1H), 7,82 (d, *J* = 8,47 Hz, 1H), 7,73-7,68 (m, 2H), 7,63 (s, 1H), 7,46 (d, *J* = 7,57 Hz, 2H), 7,23 (s a, 1H), 6,68 (d, *J* = 8,02 Hz, 1H), 5,50-5,45 (c, *J* = 7,24 Hz, 1H), 3,92 (s, 2H), 1,54 (d, *J* = 7,66 Hz, 3H).

20

25

Procedimiento H

(Compuesto 249)

2-{5-[2-(4-Cloro-3-trifluorometil-fenil)-acetilamino]-1-oxo-1H-isoquinolin-2-il}-acetamida5 **a. 2-(5-Nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)acetamida**

Un matraz de fondo redondo se cargó con 5-nitro-isocromen-1-ona (2,5 g, 0,013 mol), metanol (50 ml, 1 mol), clorhidrato de glicinamida (3,0 g, 0,027 mol) y trietilaluminio (4,4 ml, 0,033 mol) y se calentó a 85 °C durante 3 horas. El disolvente se retiró a presión reducida para obtener el producto en forma de un sólido de color amarillo. EM m/z = 248,2 (M+H).

10 **b. 2-(5-Amino-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)acetamida**

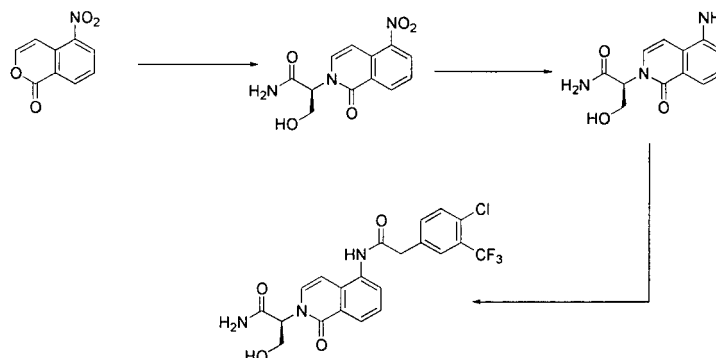
Un matraz de fondo redondo se cargó con 2-(5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)acetamida (0,98 g, 0,0040 mol), metanol (200 ml, 4 mol) y se le añadió paladio, al 10 % en peso sobre carbón vegetal (0,1 g, 0,001 mol) y la reacción se agitó en atmósfera de hidrógeno (1 atm) durante 1 hora. La mezcla de reacción se filtró y el disolvente se retiró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (40 g, MeOH al 0-10 %/DCM) para proporcionar el producto en forma de un sólido de color blanco. EM m/z = 218,3 (M+H).

15 **c. N-(2-(2-Amino-2-oxoetil)-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-5-il)-2-(4-cloro-3-(trifluorometil)fenil)acetamida**

Un matraz de fondo redondo se cargó con ácido 2-(4-cloro-3-(trifluorometil)fenil)acético (170 mg, 0,00072 mol), hexafluorofosfato de *N,N,N',N'*-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio (400 mg, 0,001 mol), *N,N*-diisopropiletilamina (0,2 ml, 0,001 mol), *N,N*-dimetilformamida (2 ml, 0,03 mol) y 2-(5-amino-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)acetamida (120 mg, 0,00055 mol). La reacción se agitó durante 16 h a temperatura ambiente y el disolvente se retiró y el residuo se purificó mediante HPLC preparativa (fase inversa) para proporcionar el producto en forma de un polvo de color blanco. EM m/z = 437,8 (M+1). RMN ¹H (400 MHz; DMSO-d₆) δ 10,09 (s, 1H), 8,04 (d, *J* = 8,07 Hz, 1H), 7,89 (s a, 1H), 7,83 (d, *J* = 8,07 Hz, 1H), 7,73-7,70 (m, 2H), 7,63 (s a, 1H), 7,46 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,42 (d, *J* = 7,76 Hz, 1H), 7,19 (s a, 1H), 6,64 (d, *J* = 7,70 Hz, 1H), 4,56 (s, 2H), 3,92 (s, 2H).

25 **Procedimiento J**

(Compuesto 250)

(S)-2-{5-[2-(4-Cloro-3-trifluorometil-fenil)-acetilamino]-1-oxo-1H-isoquinolin-2-il}-3-hidroxi-propionamida

a. (S)-3-Hidroxi-2-(5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanamida

Un matraz de fondo redondo se cargó con 5-nitro-isocromen-1-ona (2 g, 0,01 mol), metanol (40 ml, 1 mol), clorhidrato de (S)-2-amino-3-hidroxiopropanamida (2,2 g, 0,016 mol) y trietilamina (2,55 ml, 0,0183 mol) y se agitó a 52 °C durante la noche. El producto se separó por precipitación y se filtró y secó para proporcionar el producto puro en forma de un sólido de color amarillo. EM m/z = 278,3 (M+H).

b. (S)-2-(5-Amino-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)-3-hidroxiopropanamida

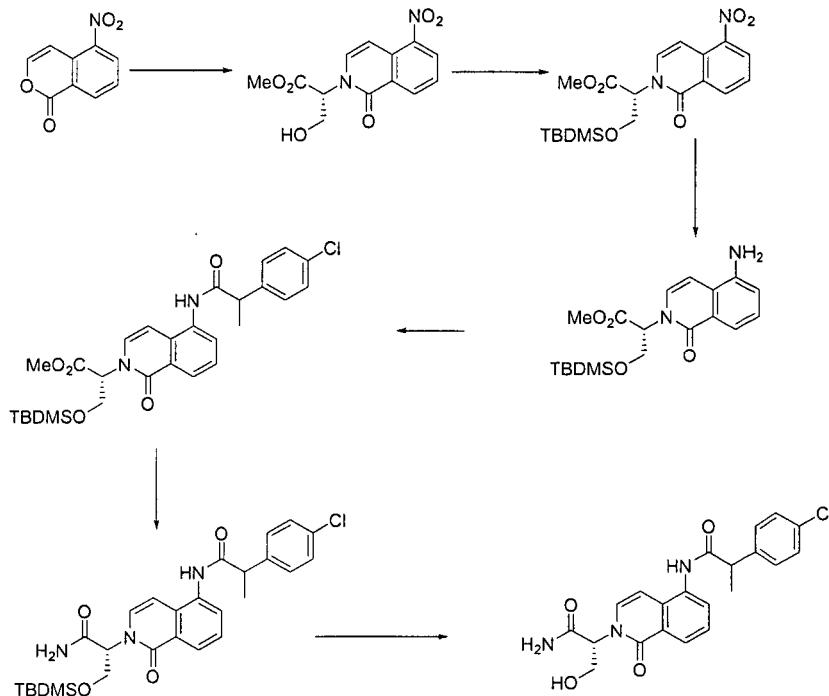
Un matraz de fondo redondo (250 ml) se cargó con (S)-3-hidroxi-2-(5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanamida (0,2 g, 0,0007 mol) y metanol (20 ml, 0,5 mol) y se le añadió paladio, al 10 % en peso sobre carbón vegetal (0,02 g, 0,0001 mol) y el matraz se evacuó de aire con la ayuda de vacío y la reacción se agitó en una atmósfera de hidrógeno (1 atm) con la ayuda de un globo. La reacción se agitó durante 45 minutos, momento en el que la reacción se había completado. La reacción se filtró y el disolvente se retiró a presión reducida para proporcionar el producto puro en forma de un sólido de color amarillo claro. EM m/z = 248,3 (M+H).

c. (S)-2-5-[2-(4-Cloro-3-trifluorometil-fenil)-acetilamin]-1-oxo-1H-isoquinolin-2-il-3-hidroxi-propionamida

Un matraz de fondo redondo se cargó con ácido 2-(4-cloro-3-(trifluorometil)fenil)acético (0,12 g, 0,00052 mol), hexafluorofosfato de *N,N,N',N'*-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio (0,3 g, 0,0008 mol), *N,N*-diisopropiletilamina (0,1 ml, 0,0008 mol) y (S)-2-(5-amino-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)-3-hidroxiopropanamida (0,1 g, 0,0004 mol). La reacción se agitó durante 16 h a temperatura ambiente y el disolvente se retiró y el residuo se purificó mediante HPLC preparativa (fase inversa) para proporcionar el producto en forma de un polvo de color blanco. EM m/z = 468,3 (M+H). RMN ¹H (400 MHz; DMSO-d₆) δ 10,09 (s, 1H), 8,07 (d, *J* = 8,34 Hz, 1H), 7,89 (s a, 1H), 7,81 (d, *J* = 7,78 Hz, 1H), 7,73-7,66 (m, 3H), 7,53 (d, *J* = 8,21 Hz, 1H), 7,44 (t, *J* = 7,88 Hz, 1H), 7,30 (s a, 1H), 6,64 (d, *J* = 7,88 Hz, 1H), 5,50 (t, *J* = 6,69 Hz, 1H), 5,16 (t, *J* = 5,48 Hz, 1H), 3,98-3,96 (m, 2H), 3,92 (s, 2H).

Procedimiento K

(Compuesto 252)

(R)-2-[5-[2-(4-Cloro-fenil)-propionilamino]-1-oxo-1H-isoquinolin-2-il]-3-hidroxi-propionamidaa. 3-Hidroxi-2-(5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanoato de (R)-metilo

Un matraz de fondo redondo se cargó con 5-nitro-isocromen-1-ona (10 g, 0,05 mol), metanol (200 ml, 5 mol), trietilamina (18 ml, 0,13 mol) y clorhidrato de 2-amino-3-hidroxiopropanoato de (R)-metilo (9,8 g, 0,063 mol), por lo que la reacción se volvió homogénea. Después, la reacción se calentó a 70 °C durante la noche. El disolvente se retiró y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (120 g, MeOH al 0-10 %/DCM) para proporcionar el producto en forma de un sólido de color amarillo. EM m/z = 293,5 (M+H).

b. 3-(*terc*-Butildimetilsililoxi)-2-(5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanoato de (R)-metilo

5 Un matraz de fondo redondo se cargó con 3-hidroxi-2-(5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanoato de (R)-metilo (4 g, 0,01 mol) y cloruro de metileno (40 ml, 0,5 mol) y se añadieron 1H-imidazol (1,6 g, 0,023 mol) y cloruro de *terc*-butildimetilsililo (2,3 g, 0,015 mol) a 0 °C y la reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 16 h. La mezcla de reacción se inactivó con agua y se extrajo con cloruro de metileno. El disolvente se retiró a presión reducida para proporcionar el producto puro. EM m/z = 407,5 (M+H).

c. 2-(5-Amino-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)-3-(*terc*-butildimetilsililoxi)propanoato de (R)-metilo

10 Un matraz de fondo redondo se cargó con 3-(*terc*-butildimetilsililoxi)-2-(5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanoato de (R)-metilo (5,5 g, 0,014 mol), metanol (100 ml, 2 mol); se añadió paladio, al 10 % en peso sobre carbón vegetal (0,3 g, 0,003 mol) y la reacción se agitó en atmósfera de hidrógeno (1 atm) durante 2 h. La reacción se filtró sobre celite y el disolvente se retiró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (40 g, MeOH al 0-10 %/DCM) para proporcionar el producto en forma de una masa pegajosa de color amarillo. EM m/z = 377,5 (M+H).

d. 3-(*terc*-Butildimetilsililoxi)-2-(5-(2-(4-clorofenil)propanamido)-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanoato de (2R)-metilo

15 Un matraz de fondo redondo se cargó con 2-(5-amino-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)-3-(*terc*-butildimetilsililoxi)propanoato de (R)-metilo (500 mg, 0,001 mol), *N,N*-dimetilformamida (2 ml, 0,03 mol), *N,N*-diisopropiletilamina (0,5 ml, 0,003 mol), hexafluorofosfato de *N,N,N',N'*-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio (1 g, 0,003 mol) y ácido 2-(4-clorofenil)propanoico (340 mg, 0,0018 mol) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche y después durante otras 12 h. El disolvente se retiró y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida para proporcionar el producto en forma de un sólido de color blanco. EM m/z = 545,4 (M+H).

e. (2R)-3-(*terc*-Butildimetilsililoxi)-2-(5-(2-(4-clorofenil)propanamido)-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanamida

25 A matraz de fondo redondo se cargó con 3-(*terc*-butildimetilsililoxi)-2-(5-(2-(4-clorofenil)propanamido)-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanoato de (2R)-metilo (200 mg, 0,00032 mol) y 5 ml de amoniaco en metanol (2 M) y la reacción se calentó en un tubo sellado a 70 °C durante la noche. La reacción solo se completó parcialmente. El disolvente se retiró y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida para proporcionar el producto en forma de un aceite de color amarillo claro. EM m/z = 529,2 (M+H).

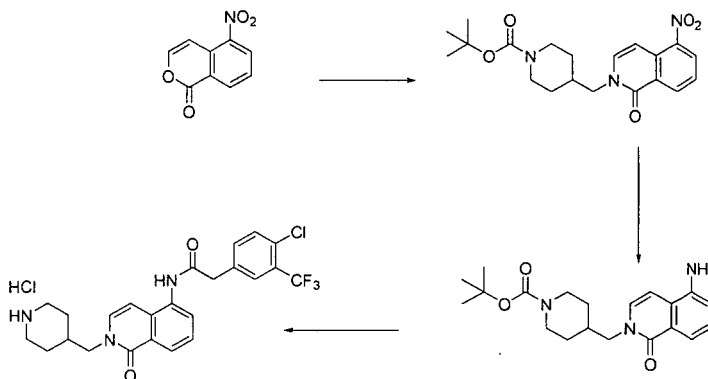
f. N-(2-((R)-1-Amino-3-hidroxi-1-oxopropan-2-il)-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-5-il)-2-(4-clorofenil)-propanamida

30 Una mezcla de (2R)-3-(*terc*-butildimetilsililoxi)-2-(5-(2-(4-diclorofenil)propanamido)-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanamida (60 mg, 0,0001 mol), tetrahidrofurano (3 ml, 0,04 mol) y fluoruro de tetra-*n*-butilamonio (0,037 ml, 0,00012 mol) se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos tiempo durante el cual la reacción se completó. El disolvente se retiró a presión reducida y el residuo se purificó mediante HPLC preparativa (fase inversa) para proporcionar el producto en forma de un sólido de color blanco. EM m/z = 414,3 (M+H). RMN ¹H (400 MHz; DMSO-d₆) δ 9,98 (s, 1H), 8,06 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,73 (t, *J* = 7,81 Hz, 1H), 7,65 (s, 1H), 7,49 (m, 6H), 7,29 (s, 1H), 6,46-6,43 (dd, *J* = 4,61 y 3,42 Hz, 1H), 5,48 (t, *J* = 6,03 Hz, 1H), 5,15 (s, 1H), 4,06-4,01 (c, *J* = 6,64 Hz, 1H), 3,98-3,96 (m, 2H), 1,45 (d, *J* = 7,14 Hz, 3H).

Procedimiento L

(Compuesto 257, no de la invención)

2-(4-Cloro-3-trifluorometil-fenil)-N-(1-oxo-2-piperidin-4-il-metil-1,2-dihidroisoquinolin-5-il)-acetamida



40

a. Éster *tert*-butílico del ácido 4-(5-nitro-1-oxo-1H-isoquinolin-2-ilmetil)piperidin-1-carboxílico

5 En un matraz de fondo redondo se combinaron 5-nitro-isocromen-1-ona (2,0 g, 0,0094 mol), clorhidrato de 4-(aminometil)piperidin-1-carboxilato de *tert*-butilo (4,7 g, 0,019 mol) y metanol (80 ml, 2 mol). La mezcla se calentó a reflujo durante 1,5 horas. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La CL-EM mostró que el material de partida se había consumido por completo. Los volátiles se retiraron y el aceite resultante se purificó mediante gel de sílice en un gradiente de metanol:cloruro de metileno (0-10 %). Las fracciones que contenían el producto deseado, como se determinó mediante TLC y CL-EM, se combinaron y se concentraron para proporcionar un sólido de color amarillo (3,22 g). EM m/z = 388,1 (M+1).

b. 4-((5-Amino-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)metil)piperidin-1-carboxilato de *tert*-butilo

10 En un matraz de fondo redondo se combinaron éster *tert*-butílico del ácido 4-(5-nitro-1-oxo-1H-isoquinolin-2-ilmetil)-piperidin-1-carboxílico (3,22 g, 0,00790 mol), paladio sobre C (0,48 g, 0,0045 mol) y metanol (100 ml, 2 mol). La mezcla de reacción se agitó en balón de hidrógeno a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla se filtró sobre celite, el MeOH se retiró y el producto se obtuvo en forma de un sólido (2,68 g). m/z = 357,9 (M+1).

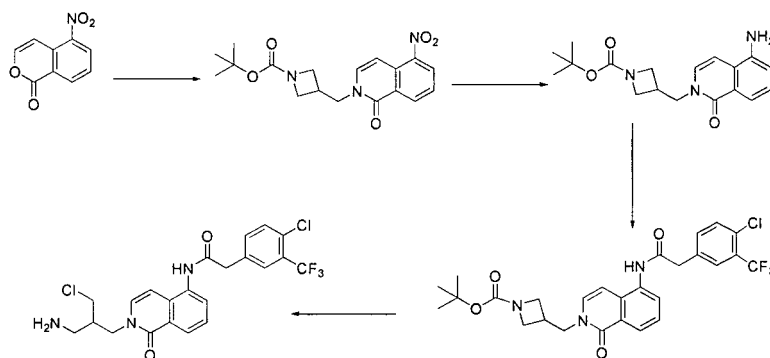
c. Clorhidrato de 2-(4-cloro-3-(trifluorometil)fenil)-N-(1-oxo-2-(piperidin-4-ilmetil)-1,2-dihidroisoquinolin-5-il)acetamida

15 A una solución de 4-((5-amino-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)metil)piperidin-1-carboxilato de *tert*-butilo (100,0 mg, 0,0002658 mol) en *N,N*-dimetilformamida (5 ml, 0,06 mol) se le añadieron ácido 2-(4-cloro-3-(trifluorometil)fenil)acético (143,0 mg, 0,0005994 mol), hexafluorofosfato de *N,N,N',N'*-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio (360,0 mg, 0,0009468 mol) y *N,N*-diisopropiletilamina (305,0 µl, 0,001751 mol). La mezcla de reacción se agitó durante 16 horas a 50 °C. Se comprobó la CL/EM y la reacción era completa. Se añadió EtOAc (100 ml) y la mezcla se lavó con agua (100 ml, 2 veces), NaHCO₃ sat., H₂O y salmuera. La fase de EtOAc se secó mediante MgSO₄ y se evaporó en el rotavapor. El residuo de color amarillo se purificó mediante columna de gel de sílice y se obtuvo un producto puro protegido con Boc. A una solución del producto protegido con Boc en 2 ml de dioxano se le añadió HCl 2 M en EtOEt (15 ml). Después, la mezcla se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente para producir el compuesto final en forma de un sólido de color claro (65,3 mg). EM m/z = 478,2 (M+1).
 20
 25 RMN ¹H (400 MHz; DMSO-d₆) δ 10,25 (s, 1H), 8,83 (s, 1H), 8,08 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 7,91 (s, 1H), 7,82 (d, J = 6,9 Hz, 1H), 7,72 (s a, 2H), 7,55-7,40 (m, 2H), 6,71 (d, J = 6,8 Hz, 1H), 4,20-3,80 (m, 4H), 3,28-3,15 (m, 2H), 2,90-2,70 (m, 2H), 2,10 (s a, 1H), 1,80-1,60 (m, 2H), 1,52-1,35 (m, 2H).

Procedimiento M

(Compuesto 258)

30 **N-[2-(3-Amino-2-clorometil-propil)-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-2-(4-cloro-3-trifluorometil-fenil)-acetamida**



a. 3-((5-Nitro-1-oxoisoquinolin-2H)-il)metil)azetidín-1-carboxilato de *tert*-butilo

35 En un matraz de fondo redondo se combinaron 5-nitro-isocromen-1-ona (0,5 g, 0,002 mol), 3-(aminometil)azetidín-1-carboxilato de *tert*-butilo (0,975 g, 0,00523 mol), metanol (15 ml, 0,37 mol) y la mezcla se calentó a reflujo durante 2 horas. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente. La CL-EM mostró que el material de partida se había consumido completamente. Los volátiles se retiraron y el aceite resultante se purificó mediante gel de sílice dos veces en un gradiente de metanol:cloruro de metileno (0-10 %) y en un gradiente de EtOAc:hexano (30-80 %). Se obtuvo un sólido de color amarillo claro (0,56 g). m/z = 360,0 (M+1).

40 b. Éster *tert*-butílico del ácido 3-(5-amino-1-oxo-1H-isoquinolin-2-ilmetil)-azetidín-1-carboxílico

En un matraz de fondo redondo se combinaron 3-((5-nitro-1-oxoisoquinolin-2H)-il)metil)azetidín-1-carboxilato de *tert*-butilo (0,56 g, 0,0015 mol), paladio sobre C (0,16 g, 0,0015 mol) y metanol (50 ml, 1 mol). La mezcla de reacción se agitó en balón de hidrógeno a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se filtró sobre celite, se retiró el

MeOH y se purificó mediante columna de gel de sílice dos veces (DCM:MeOH y EtOAc:hexano). Se obtuvo un sólido de color blanco (190 mg). EM $m/z = 330,0$ (M+1).

c. N-(2-(3-Amino-2-(clorometil)propil)-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-5-il)-2-(4-cloro-3-(trifluorometil)fenil) acetamida

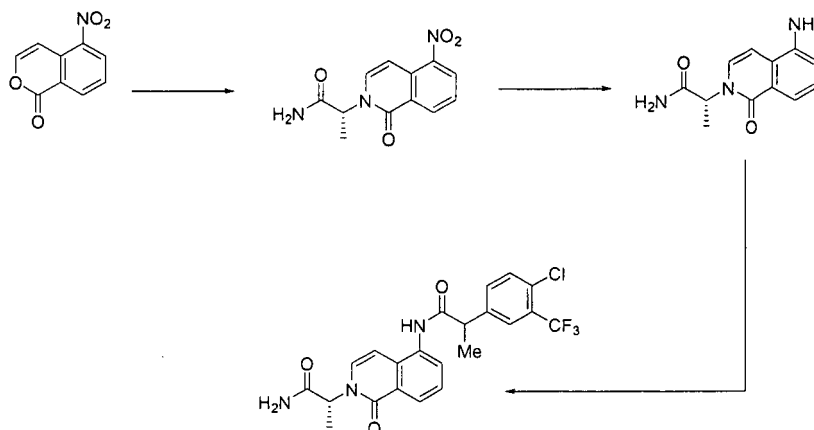
5 A una solución de éster *terc*-butílico del ácido 3-(5-amino-1-oxo-1H-isoquinolin-2-ilmetil)-azetidín-1-carboxílico (96,0 mg, 0,000277 mol) en *N,N*-dimetilformamida (5 ml, 0,06 mol) se le añadió ácido 2-(4-cloro-3-(trifluorometil)fenil)acético (150,0 mg, 0,0006287 mol), hexafluorofosfato de *N,N,N',N'*-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio (230,0 mg, 0,0006049 mol) y *N,N*-diisopropiletilamina (215 μ l, 0,00123 mol). La mezcla de reacción se agitó durante 16 horas a 50 °C. Se comprobó la CL/EM y se descubrió que la reacción se había completado. Se añadió EtOAc (100 ml) y la mezcla se lavó con agua (100 ml, 2 veces), NaHCO₃ sat., H₂O y salmuera. La fase de EtOAc se secó con MgSO₄ y se evaporó en el rotavapor. El residuo de color amarillo se purificó mediante columna de gel de sílice para proporcionar el producto puro protegido con Boc.

15 A una solución del producto protegido con Boc en 2 ml de dioxano se le añadió HCl 2 M en EtOEt (15 ml) y se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente para obtener el producto del título que se purificó mediante HPLC. EM $m/z = 487,2$ (M+1). RMN ¹H (400 MHz; DMSO-*d*₆) δ 10,15 (s, 1H), 8,08 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,90 (s, 1H), 7,84 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H), 7,75-7,65 (m, 2H), 7,55-7,42 (m, 2H), 6,73 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 5,30-4,30 (s a, 2H), 4,08 (dd, *J* = 13,4, 7,3 Hz, 1H), 3,97 (dd, *J* = 13,5, 6,6 Hz, 1H), 3,93 (s, 2H), 3,80 (dd, *J* = 11,2, 4,8 Hz, 1H), 3,73 (dd, *J* = 11,2, 5,1 Hz, 1H), 2,67 (d, *J* = 6,0 Hz, 2H), 2,45-2,30 (m, 1H).

Procedimiento N

(Compuesto 267)

20 **(R)-2-{5-[2-(4-Cloro-3-trifluorometil-fenil)-propionilamino]-1-oxo-1H-isoquinolin-2-il}-propionamida**



a. (R)-2-(5-Nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanamida

25 A una solución de 5-nitro-isocromen-1-ona (2 g, 0,01 mol) en metanol (40 ml, 1 mol) se le añadió clorhidrato de (R)-2-amino-propanamida (2,0 g, 0,016 mol) y trietilamina (2,6 ml, 0,019 mol) y se agitó a 52 °C durante 3 h. El producto (sólido de color amarillo) se separó por precipitación y se filtró y se llevó a la siguiente reacción. EM $m/z = 262,1$ (M+1).

b. (R)-2-(5-Amino-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanamida

30 En un matraz de fondo redondo se combinaron (R)-2-(5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanamida (5,0 g, 0,018 mol), paladio sobre C (0,3 g, 0,003 mol) y metanol (200 ml, 5 mol) (se añadieron aproximadamente 80 ml de EtOAc para disolver los reactivos). La mezcla de reacción se agitó en balón de hidrógeno a temperatura ambiente durante 40 min. La mezcla se filtró sobre celite, se retiró el MeOH y se obtuvo un sólido (4,02 g). EM $m/z = 232,4$ (M+1).

c. N-(2-((R)-1-Amino-1-oxopropan-2-il)-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-5-il)-2-(4-cloro-3-(trifluorometil)fenil)propanamida

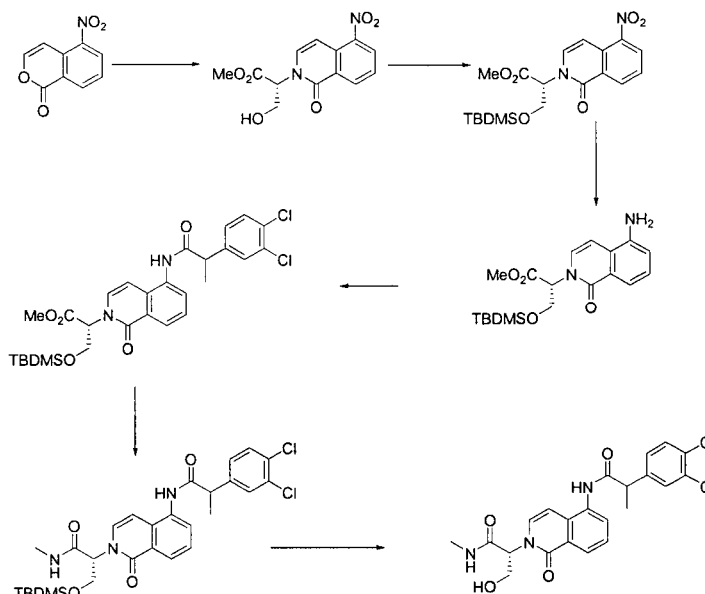
35 A una solución de (R)-2-(5-amino-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanamida (183,1 mg, 0,0007522 mol) en *N,N*-dimetilformamida (6 ml, 0,08 mol) se le añadieron ácido 2-(4-cloro-3-(trifluorometil)fenil)propanoico (110,0 mg, 0,0004137 mol), hexafluorofosfato de *N,N,N',N'*-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio (360 mg, 0,00095 mol) y *N,N*-diisopropiletilamina (305 μ l, 0,00175 mol). La mezcla de reacción se agitó a 50 °C durante la noche. Se comprobó la CL/EM y la reacción era completa. En el tratamiento, se añadió EtOAc (100 ml) a la solución de reacción y la solución se lavó con agua (100 ml, 2 veces), NaHCO₃ sat., H₂O y salmuera. La mezcla se secó con MgSO₄ y se evaporó en el rotavapor. El residuo se purificó mediante HPLC. El producto se recuperó en forma de un sólido. EM $m/z = 466,1$ (M+1). RMN ¹H (400 MHz; DMSO-*d*₆) δ 10,08 (s, 1H), 8,07 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 7,92 (s, 1H),

7,80-70 (m, 3H), 7,63 (s, 1H), 7,50-7,40 (m, 2H), 7,23 (s, 1H), 6,51 (dd, $J = 7,6, 4,8$ Hz, 1H), 5,47 (c, $J = 7,2$ Hz, 1H), 4,16 (c, $J = 7,0$ Hz, 1H), 1,58-1,45 (m, 6H).

Procedimiento O

(Compuesto 270)

5 (R)-2-[5-[2-(3,4-Dicloro-fenil)-propionilamino]-1-oxo-1H-isoquinolin-2-il]-3-hidroxi-N-metil-propionamida



a. 3-Hidroxi-2-(5-nitro-L-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanoato de (R)-metilo

10 Un matraz de fondo redondo se cargó con 5-nitro-isocromen-1-ona (10 g, 0,05 mol), metanol (200 ml, 5 mol), trietilamina (18 ml, 0,13 mol) y clorhidrato de 2-amino-3-hidroxi-propanoato de (R)-metilo (9,8 g, 0,063 mol), por lo que la reacción se volvió homogénea. Después, la reacción se calentó a 70 °C durante la noche. El disolvente se retiró y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (120 g de gel de sílice, MeOH al 0-10 %/DCM) para obtener el producto en forma de un sólido de color amarillo. EM $m/z = 293,5$ (M+H).

b. 3-(*tert*-Butildimetilsiloxi)-2-(5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanoato de (R)-metilo

15 Un matraz de fondo redondo se cargó con 3-hidroxi-2-(5-nitro-L-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanoato de (R)-metilo (4 g, 0,01 mol), cloruro de metileno (40 ml, 0,5 mol) y se añadieron 1H-imidazol (1,6 g, 0,023 mol) y cloruro de *tert*-butildimetilsililo (2,3 g, 0,015 mol) a 0 °C y la reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 16 h. La mezcla de reacción se inactivó con agua y se extrajo con cloruro de metileno. El disolvente se retiró a presión reducida para recuperar el producto puro en forma de un sólido de color naranja. EM $m/z = 407,5$ (M+H).

c. 2-(5-Amino-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)-3-(*tert*-butildimetilsililoxi)propanoato de (R)-metilo

20 Un matraz de fondo redondo se cargó con 3-(*tert*-butildimetilsililoxi)-2-(5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanoato de (R)-metilo (5,5 g, 0,014 mol), metanol (100 ml, 2 mol) y se añadió paladio, al 10 % en peso sobre carbón vegetal (0,3 g, 0,003 mol) y la reacción se agitó en atmósfera de hidrógeno (1 atm) durante 2 h. La reacción se filtró sobre celite, el disolvente se retiró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (40 g de gel de sílice, MeOH al 0-10 %/DCM) para proporcionar el producto en forma de una masa pegajosa de color amarillo. EM $m/z = 377,5$ (M+H).

d. 3-(*tert*-Butildimetilsililoxi)-2-(5-(2-(3,4-diclorofenil)propanamido)-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanoato de (2R)-metilo

30 Un matraz de fondo redondo se cargó con 2-(5-amino-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)-3-(*tert*-butildimetilsililoxi)propanoato de (R)-metilo (300 mg, 0,0008 mol), ácido 2-(3,4-diclorofenil)propanoico (200 mg, 0,00092 mol), hexafluorofosfato de *N,N,N',N'*-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio (600 mg, 0,002 mol), *N,N*-diisopropiletilamina (0,3 ml, 0,002 mol) y *N,N*-dimetilformamida (2 ml, 0,03 mol) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La reacción no se completó. El disolvente se retiró y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida para obtener el producto en forma de un sólido. EM $m/z = 578,3$ (M+H).

e. (2R)-3-(*tert*-Butildimetilsililoxi)-2-(5-(2-(3,4-diclorofenil)propanamido)-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)-N-metilpropanamida

Una mezcla de 3-(*tert*-butildimetilsililoxi)-2-(5-(2-(3,4-diclorofenil)propanamido)-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanoato de (2R)-metilo (200 mg, 0,0003 mol), 5 ml de metilamina y tetrahydrofurano (2 M) se calentó en un tubo sellado a 70 °C durante la noche. La reacción se completó solo parcialmente. El disolvente se retiró y el residuo se purificó mediante cromatografía de resolución ultrarrápida para obtener el producto en forma de un aceite de color amarillo claro. EM m/z = 577,4 (M+H).

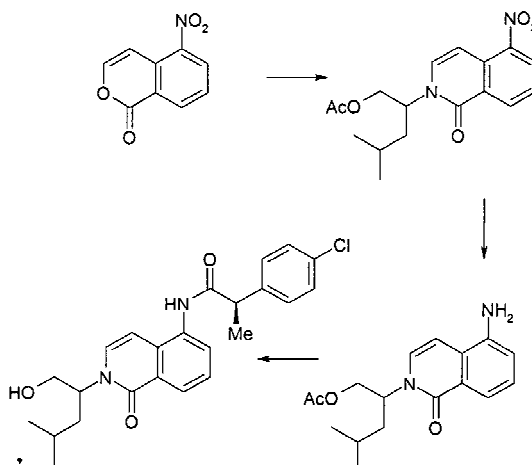
f. (2R)-2-(5-(2-(3,4-Diclorofenil)propanamido)-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)-3-hidroxi-N-metilpropanamida

Un matraz de fondo redondo se cargó con (2R)-3-(*tert*-butildimetilsililoxi)-2-(5-(2-(3,4-diclorofenil)propanamido)-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)-N-metilpropanamida (60 mg, 0,0001 mol), tetrahydrofurano (3 ml, 0,04 mol) y fluoruro de tetra-n-butilamonio (0,037 ml, 0,00012 mol) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos tiempo durante el cual la reacción se completó. El disolvente se retiró a presión reducida y el residuo se purificó mediante HPLC preparativa (fase inversa) para proporcionar el producto en forma de un sólido de color blanco. EM m/z = 463,3 (M+H). RMN ¹H (400 MHz; DMSO-d₆) δ 10,02 (s, 1H), 8,12 (m, 1H), 8,06 (d, J = 8,26 Hz, 1H), 7,74 (t, J = 7,29 Hz, 1H), 7,68 (d, J = 1,82 Hz, 1H), 7,64 (d, J = 8,43 Hz, 1H), 7,51 (dd, J = 7,97 y 3,17 Hz, 1H), 7,46-7,42 (m, 2H), 6,37 (dd, J = 5,04 y 2,04 Hz, 1H), 5,47 (t, J = 6,94 Hz, 1H), 5,15-5,13 (m, 1H), 4,05 (c, J = 7,24 Hz, 1H), 3,95-3,92 (m, 2H), 2,57 (d, J = 4,25 Hz, 3H), 1,47 (d, J = 7,22 Hz, 3H).

Procedimiento P

(Compuesto 273)

20 **(R)-2-(4-Cloro-fenil)-N-[(R)-2-(1-hidroximetil-2-metil-propil)-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-propionamida**



a. Acetato de (R)-4-metil-2-(5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)pentilo

En un matraz de fondo redondo se combinaron 5-nitro isocromen-1-ona (5,50 g, 0,0259 mol), (R)-2-amino-4-metilpentan-1-ol (6,07 g, 0,0518 mol) y metanol (160 ml, 4,1 mol). La mezcla se calentó a reflujo durante 3 horas. La mezcla se dejó enfriar, se redujo al vacío y se secó en alto vacío durante aproximadamente 1 hora. Se añadieron cloruro de metileno (200 ml, 3 mol) y cloruro de acetilo (4,1 g, 0,052 mol) y la mezcla se calentó a 50 °C durante 3 horas. La solución resultante se redujo al vacío y se purificó. La mezcla se purificó mediante cromatografía en columna usando un gradiente de metanol:cloruro de metileno (0-3 %). Las fracciones puras combinadas se redujeron al vacío para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo oscuro que se llevó a la siguiente etapa sin purificación adicional.

b. Acetato de (R)-2-(5-amino-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)-4-metilpentilo

En un matraz de fondo redondo se combinaron acetato de (R)-4-metil-2-(5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)pentilo (3,00 g, 0,00903 mol), paladio sobre C (0,1 g, 0,0009 mol) y metanol (170 ml, 4,1 mol). La mezcla de reacción se agitó en atmósfera de hidrógeno a temperatura ambiente y se controló el progreso. A los 40 minutos, la reacción se completó por la ausencia de cualquier material de partida en el análisis CL-EM. La mezcla se filtró dos veces usando un sistema DryDisk para retirar el catalizador. Los volátiles se retiraron al vacío y la mezcla se purificó mediante cromatografía en columna usando un gradiente de acetato de etilo:hexanos (0-100 %). Las fracciones puras combinadas se redujeron al vacío para proporcionar el compuesto del título en forma de un aceite de color amarillo.

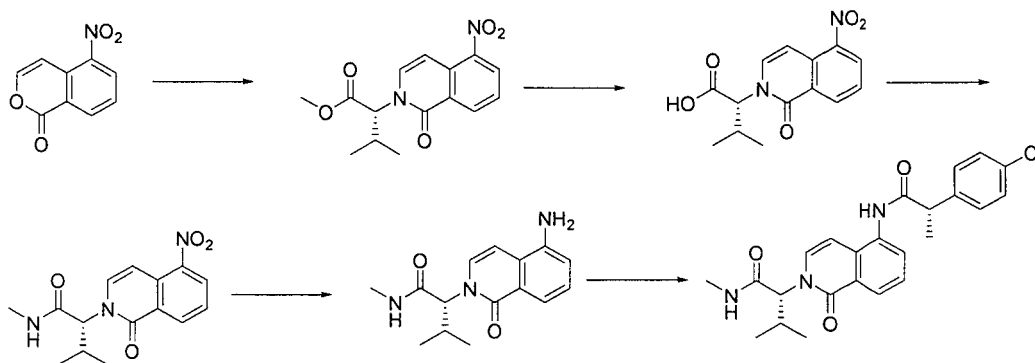
c. (R)-2-(4-Cloro-fenil)-N-[2-((R)-1-hidroxi-metil-3-metil-butil)-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-5-il]-propionamida

En un vial de reacción de 20 ml se combinaron acetato de (R)-2-(5-amino-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)-4-metilpentilo (0,23 g, 0,00076 mol), ácido (R)-2-(4-clorofenil)propanoico (0,175 g, 0,000949 mol), hexafluorofosfato de *N,N,N',N'*-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio (0,58 g, 0,0015 mol), *N,N*-diisopropiletilamina (0,26 ml, 0,0015 mol) y *N,N*-dimetilformamida (4 ml, 0,06 mol). La mezcla se calentó a 50 °C durante 3 horas y se dejó enfriar a temperatura ambiente. La mezcla se vertió sobre bicarbonato de sodio saturado (200 ml) y se extrajo con acetato de etilo (100 ml, 3 veces). Los extractos combinados se secaron sobre sulfato de sodio y se redujeron al vacío para proporcionar un aceite de color marrón claro. El aceite se recogió en metanol (10 ml) y se añadió NaOH 2 N (10 ml). La mezcla se dejó en agitación durante la noche. Los volátiles se retiraron y la mezcla se extrajo con cloruro de metileno (20 ml, 2 veces). Los extractos combinados se redujeron al vacío y la mezcla se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa utilizando un gradiente de acetonitrilo:agua a pH 10. Las fracciones puras combinadas se redujeron al vacío para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo.

RMN-¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9,97 (s, 1H), 8,07 (d, 1H, *J* = 7,93 Hz), 7,23 (d, 1H, *J* = 7,67 Hz), 7,48-7,41 (m, 6H), 6,47 (t, 1H, *J* = 7,57 Hz), 4,81 (m, 1H), 4,63 (s a, 1H), 4,03 (c, 1H, *J* = 6,95 Hz), 3,83-3,77 (m, 1H), 3,72-3,66 (m, 1H), 2,16-2,10 (m, 1H), 1,45 (dd, 3H, *J* = 7,03 Hz), 1,03 (d, 3H, *J* = 6,45 Hz), 0,66 (d, 3H, *J* = 6,67 Hz).

Procedimiento Q

(Compuesto 276)

(R)-2-{5-[(S)-2-(4-Cloro-fenil)-propionil-amino]-1-oxo-1H-isoquinolin-2-il}-3,N-dimetil-butiramida20 a. 3-Metil-2-(5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)butanoato de (R)-metilo

Se calentaron a reflujo 5-nitro-isocromen-1-ona (5 g, 0,03 mol) y clorhidrato del éster metílico de D-valina (5 g, 0,03 mol) en metanol (40 ml, 1 mol) con trietilamina (5 g, 0,05 mol) durante 2 horas. Los volátiles se retiraron por medio de un rotavapor, y el residuo se purificó por medio de cromatografía en columna ultrarrápida (40 g de gel de sílice, EtOAc al 0-30 %/hexano) para proporcionar un aceite de color marrón. EM m/z 305,2 (M+H)⁺.

25 b. Ácido (R)-3-metil-2-(5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)butanoico

Se agitó 3-metil-2-(5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)butanoato de (R)-metilo (0,6 g, 0,002 mol) con hidróxido de litio (0,09 g, 0,004 mol) en alcohol *terc*-butílico (4 ml, 0,04 mol) y agua (2 ml, 0,1 mol) a 0 °C durante 3 horas. Se añadió HCl 1 N hasta pH <7 y después la mezcla de reacción se extrajo con CH₂Cl₂ (40 ml, 3 veces). Las fases orgánicas se secaron sobre MgSO₄, se filtraron, se purificaron por medio de cromatografía ultrarrápida (12 g de gel de sílice, EtOAc al 0-50 %/hexano) para proporcionar un aceite de color amarillo. EM m/z 291,0 (M+H)⁺.

c. (R)-3,N-Dimetil-2-(5-nitro-1-oxo-1H-isoquinolin-2-il)-butiramida

Se agitaron ácido (R)-3-metil-2-(5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)butanoico (2 g, 0,007 mol), metilamina (7 ml, 0,01 mol), hidrato de 1-hidroxibenzotriazol (2 g, 0,01 mol), clorhidrato de *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N'*-etilcarbodiimida (3 g, 0,01 mol), *N,N*-diisopropiletilamina (4 g, 0,03 mol), en cloruro de metileno (20 ml, 0,3 mol) a temperatura ambiente durante 16 horas. La mezcla de reacción se diluyó con CH₂Cl₂ (200 ml), se lavó con NaHCO₃ sat, se secó sobre MgSO₄, se filtró, se purificó por medio de cromatografía ultrarrápida (40 g de gel de sílice, EtOAc al 0-50 %/hexano) para producir un sólido de color amarillo. m/z 304,2 (M+H)⁺.

d. (R)-2-(5-Amino-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)-N,3-dimetilbutanamida

Se agitó (R)-3,N-dimetil-2-(5-nitro-1-oxo-1H-isoquinolin-2-il)-butiramida (1,4 g, 0,0045 mol) con paladio al 10 % en peso sobre carbonato de calcio (1,4 g, 0,00068 mol) en metanol (100 ml, 2 mol) en atmósfera de hidrógeno (globo) durante 1 h a temperatura ambiente. El catalizador se filtró, el filtrado se concentró a sequedad para proporcionar un sólido de color amarillo. EM m/z 273,9 (M+H)⁺.

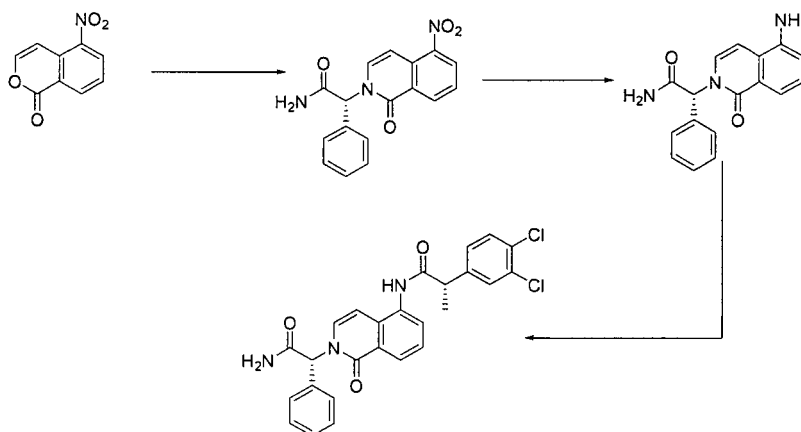
e. (R)-2-(5-((S)-2-(4-Clorofenil)propanamido)-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)-N,3-dimetilbutanamida

Se agitaron (R)-2-(5-amino-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)-N,3-dimetilbutanamida (0,2 g, 0,0007 mol), ácido (S)-2-(4-clorofenil)propanoico (0,16 g, 0,00088 mol), hexafluorofosfato de *N,N,N',N'*-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio (0,56 g, 0,0015 mol), *N,N*-diisopropiletilamina (0,4 g, 0,003 mol), en cloruro de metileno (3 ml, 0,05 mol) y *N,N*-dimetilformamida (1 ml, 0,01 mol) a temperatura ambiente durante un fin de semana. La mezcla de reacción se diluyó con CH₂Cl₂ (100 ml), se lavó con NaHCO₃ (20 ml, 3 veces), se secó sobre Na₂SO₄, se purificó por medio de cromatografía ultrarrápida (12 g de gel de sílice, EtOAc al 0-90 %/hexano) y después la HPLC preparativa proporcionó un sólido de color blanco. RMN ¹H (CDCl₃) δ: 9,23 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 8,00 (t, *J* = 7,5 Hz, 1H), 7,52-7,36 (m, 6H), 7,04 (a, 1H), 6,17 (a, 1H), 6,03-6,00 (m, 1H), 5,07 (d, *J* = 11,4 Hz, 1H), 3,82 (c, *J* = 7,0 Hz, 1H), 2,76 (d, *J* = 4,8 Hz, 3H), 2,56-2,48 (m, 1H), 1,65 (dd, *J* = 1,8, 7,1 Hz, 3H), 1,06 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H), 0,75 (dd, *J* = 2,6, 6,6 Hz, 3H). EM m/z 440,0 (M+H)⁺.

Procedimiento R

(Compuesto 278)

(S)-N-[2-((R)-Carbamoiil-fenil-metil)-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-2-(3,4-dicloro-fenil)-propionamida



15

a. (R)-2-(5-Nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)-2-fenilacetamida

Un matraz de fondo redondo se cargó con 5-nitro-isocromen-1-ona (2 g, 0,01 mol), metanol (20 ml, 0,5 mol), trietilamina (3 ml, 0,02 mol) y clorhidrato de (R)-2-amino-2-fenilacetamida (2,3 g, 0,012 mol) y la reacción se calentó a 50 °C durante 3 horas. El material de partida desapareció y el disolvente se retiró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (40 g de gel de sílice, MeOH al 0-10 %/DCM) para proporcionar el producto en forma de un sólido de color marrón. EM m/z = 324,3 (M+H).

20

b. (R)-2-(5-Amino-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)-2-fenilacetamida

Un matraz de fondo redondo se cargó con (R)-2-(5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)-2-fenilacetamida (2,3 g, 0,0071 mol), metanol (30 ml, 0,7 mol) y se añadió paladio, al 10 % en peso sobre carbón vegetal (110 mg, 0,00090 mol) y el matraz se evacuó de aire y se agitó en atmósfera de hidrógeno (1 atm) durante 1,5 horas. La mezcla de reacción se filtró sobre celite y el disolvente se retiró a presión. El residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (40 g de gel de sílice, MeOH al 0-10 %/DCM) para obtener el producto en forma de un sólido de color amarillo claro. EM m/z = 294,5 (M+H).

25

c. (S)-N-(2-((R)-2-Amino-2-oxo-1-feniletil)-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-5-il)-2-(3,4-diclorofenil)-propanamida

A matraz de fondo redondo se cargó con (R)-2-(5-amino-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)-2-fenilacetamida (120 mg, 0,00041 mol), *N,N*-dimetilformamida (1,5 ml, 0,019 mol), *N,N*-diisopropiletilamina (0,1 ml, 0,0008 mol), hexafluorofosfato de *N,N,N',N'*-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio (0,3 g, 0,0008 mol) y ácido (S)-2-(3,4-diclorofenil)propanoico (0,11 g, 0,00049 mol) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El disolvente se retiró y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida y otra vez mediante HPLC preparativa (fase inversa) para obtener el producto en forma de un sólido de color blanco EM m/z = 495,2 (M+H). RMN ¹H (400 MHz; DMSO-d₆) δ 9,98 (s, 1H), 8,13-8,11 (d, *J* = 8,37 Hz, 1H), 8,03 (s, 1H), 7,74-7,72 (d, *J* = 7,90 Hz, 1H), 7,64-7,63 (d, *J* = 2,06 Hz, 1H), 7,61-7,59 (d, *J* = 7,94 Hz, 1H), 7,55 (s, 1H), 7,50-7,33 (m, 6H), 7,00-6,98 (d, *J* = 8,02 Hz, 1H), 6,74 (s, 1H), 6,39-6,37 (d, *J* = 8,02 Hz, 1H), 4,02-3,96 (c, *J* = 7,01 Hz, 1H), 1,45-1,43 (d, *J* = 7,55 Hz, 3H).

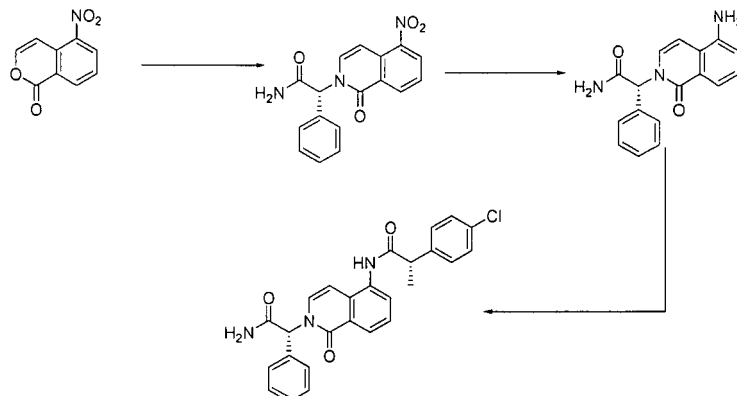
30

35

40

Procedimiento S

(Compuesto 279)

(S)-N-[2-((R)-Carbamoil-fenil-metil)-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-2-(4-cloro-fenil)-propionamida5 **a. (R)-2-(5-Nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)-2-fenilacetamida**

Un matraz de fondo redondo se cargó con 5-nitro-isocromen-1-ona (2 g, 0,01 mol), metanol (20 ml, 0,5 mol), trietilamina (3 ml, 0,02 mol) y clorhidrato de (R)-2-amino-2-fenilacetamida (2,3 g, 0,012 mol) y la reacción se calentó a 50 °C durante 3 horas. El material de partida desapareció y el disolvente se retiró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (40 g de gel de sílice, MeOH al 0-10 %/DCM) para obtener el producto en forma de un sólido de color marrón. EM m/z = 324,3 (M+H).

10 **b. (R)-2-(5-Amino-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)-2-fenilacetamida**

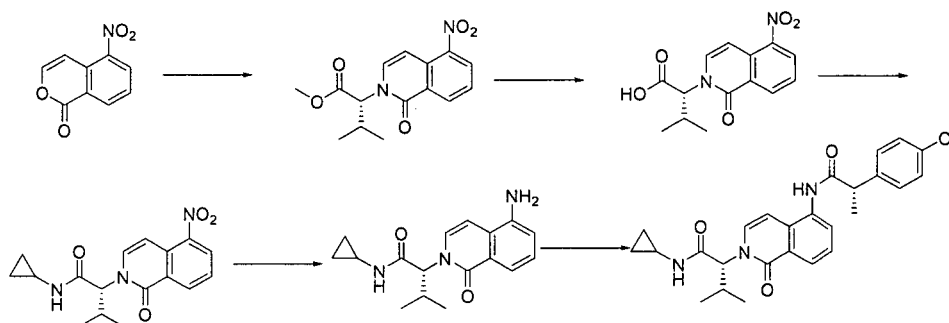
Un matraz de fondo redondo se cargó con (R)-2-(5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)-2-fenilacetamida (2,3 g, 0,0071 mol), metanol (30 ml, 0,7 mol), se añadió paladio, al 10 % en peso sobre carbón vegetal (110 mg, 0,00090 mol) y el matraz se evacuó de aire y se agitó en atmósfera de hidrógeno (1 atm) durante 1,5 h. La mezcla de reacción se filtró sobre celite y el disolvente se retiró a presión. El residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (40 g de sílice, MeOH al 0-10 %/DCM) para obtener el producto en forma de un sólido de color amarillo claro. EM m/z = 294,5 (M+H).

15 **c. (S)-N-(2-((R)-2-Amino-2-oxo-1-feniletíl)-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-5-il)-2-(4-clorofenil)-propanamida**

Una mezcla de (R)-2-(5-amino-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)-2-fenilacetamida (120 mg, 0,00041 mol), *N,N*-dimetilformamida (1,5 ml, 0,019 mol), *N,N*-diisopropiletilamina (0,1 ml, 0,0008 mol), hexafluorofosfato de *N,N,N',N'*-tetrametil-*O*-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio (0,3 g, 0,0008 mol) y ácido (S)-2-(4-clorofenil)propanoico (0,091 g, 0,00049 mol) se dejó en agitación durante la noche a temperatura ambiente. El disolvente se retiró y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (12 g de gel de sílice, MeOH al 0-10 %/DCM) y de nuevo mediante HPLC preparativa (fase inversa) para obtener el producto en forma de un sólido de color blanco. EM m/z = 460,3 (M+H). RMN ¹H (400 MHz; DMSO-d₆) δ 9,95 (s, 1H), 8,13-8,11 (d, *J* = 7,99 Hz, 1H), 8,02 (s, 1H), 7,74-7,72 (d, *J* = 7,60 Hz, 1H), 7,71-7,69 (d, *J* = 8,03 Hz, 1H), 7,55 (s, 1H), 7,50-7,32 (m, 10H), 6,99-6,97 (dd, *J* = 7,89 y 1,86 Hz, 1H), 6,74 (s, 1H), 6,39-6,37 (d, *J* = 8,02 Hz, 1H), 4,00-3,94 (c, *J* = 6,97 Hz, 1H), 1,44-1,41 (d, *J* = 7,11 Hz, 3H).

Procedimiento T

(Compuesto 281)

30 **(R)-2-[5-[(S)-2-(4-Cloro-fenil)-propionilamino]-1-oxo-1H-isoquinolin-2-il]-N-ciclopropil-3-metil-butiramida**

a. 3-Metil-2-(5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)butanoato de (R)-metilo

Se calentaron a reflujo 5-nitro-isocromen-1-ona (5 g, 0,03 mol) y clorhidrato de éster metílico de D-valina (5 g, 0,03 mol) en metanol (40 ml, 1 mol) con trietilamina (5 g, 0,05 mol) durante 2 horas. Los volátiles se retiraron por medio de un rotavapor y el residuo se purificó por medio de cromatografía en columna ultrarrápida (40 g de gel de sílice, EtOAc al 0-30 %/hexano) para producir un aceite de color marrón. EM m/z 305,2 (M+H)⁺.

b. Ácido (R)-3-metil-2-(5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)butanoico

Se agitó 3-metil-2-(5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)butanoato de (R)-metilo (0,6 g, 0,002 mol) con hidróxido de litio (0,09 g, 0,004 mol) en alcohol *terc*-butílico (4 ml, 0,04 mol) y agua (2 ml, 0,1 mol) a 0 °C durante 3 horas. Se añadió HCl 1 N hasta pH < 7 y después la mezcla de reacción se extrajo con CH₂Cl₂ (40 ml, 3 veces). Las fases orgánicas se secaron sobre MgSO₄, se filtró, se purificó por medio de cromatografía ultrarrápida (12 g de gel de sílice, EtOAc al 0-50 %/hexano) y el producto se recuperó como un aceite de color amarillo. EM m/z 291,0 (M+H)⁺.

c. (R)-N-Ciclopropil-3-metil-2-(5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)butanamida

Se agitaron ácido (R)-3-metil-2-(5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)butanoico (4 g, 0,01 mol), hidrato de 1-hidroxibenzotriazol (2,5 g, 0,016 mol), clorhidrato de N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida (3,2 g, 0,016 mol), ciclopropilamina (0,91 g, 0,016 mol), en cloruro de metileno (100 ml, 2 mol) a temperatura ambiente durante 16 horas. La mezcla de reacción se diluyó con CH₂Cl₂ (200 ml), se lavó con NaHCO₃ sat, se secó sobre MgSO₄, se filtró, se purificó por medio de cromatografía ultrarrápida (40 g de gel de sílice, EtOAc al 0-50 %/hexano) y proporcionó un sólido de color amarillo. EM m/z 330,3 (M+H)⁺.

d. (R)-2-(5-Amino-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)-N-ciclopropil-3-metilbutanamida

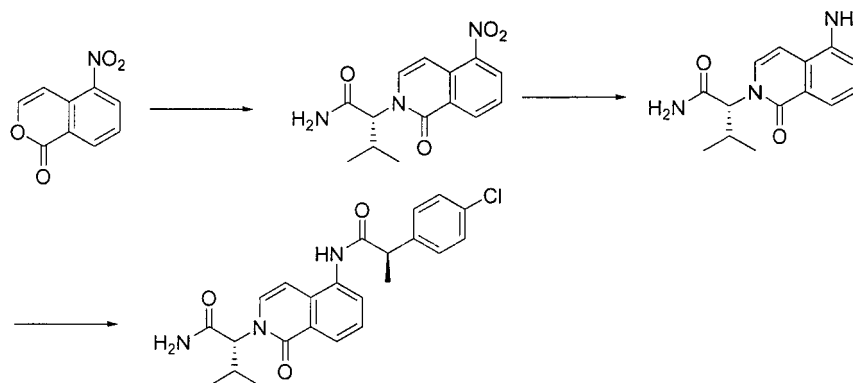
Se agitó (R)-N-ciclopropil-3-metil-2-(5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)butanamida (1,3 g, 0,0039 mol) con paladio al 10 % en peso sobre carbonato de calcio (0,2 g, 0,0001 mol) en metanol (60 ml, 1 mol) en atmósfera de hidrógeno (globo) durante 1 hora a temperatura ambiente. El catalizador se filtró y el filtrado se concentró a sequedad para proporcionar un aceite de color marrón. EM m/z 301,1 (M+H)⁺.

e. (R)-2-(5-((S)-2-(4-Clorofenil)propanamido)-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)-N-ciclopropil-3-metilbutanamida

Se agitaron (R)-2-(5-amino-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)-N-ciclopropil-3-metilbutanamida (0,2 g, 0,0007 mol), ácido (S)-2-(4-clorofenil)propanoico (0,16 g, 0,00088 mol), hexafluorofosfato de *N,N,N',N'*-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio (0,56 g, 0,0015 mol), *N,N*-diisopropiletilamina (0,4 g, 0,003 mol), en *N,N*-dimetilformamida (3 ml, 0,04 mol) a temperatura ambiente durante un fin de semana. La reacción mezcla se diluyó con CH₂Cl₂ (100 ml), se lavó con NaHCO₃ (20 ml, 3 veces), se secó sobre Na₂SO₄, se purificó por medio de cromatografía ultrarrápida (12 g de gel de sílice, EtOAc al 0-90 %/hexano) y después HPLC preparativa, proporcionó un sólido de color blanco. RMN ¹H (CDCl₃) δ: 8,22 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 8,00 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H), 7,52-7,37 (m, 6H), 7,14 (a, 1H), 6,35 (a, 1H), 6,06-6,03 (m, 1H), 5,01 (d, *J* = 11,3 Hz, 1H), 3,82 (c, *J* = 7,2 Hz, 1H), 2,65-2,61 (m, 1H), 2,52-2,32 (m, 1H), 1,64 (d, *J* = 11,1 Hz, 3H), 1,06 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H), 0,90-0,67 (m, 5H), 0,51-0,41 (m, 2H). EM m/z 465,8 (M+H)⁺.

Procedimiento U

(Compuesto 284)

(R)-2-{5-[(R)-2-(4-Cloro-fenil)-propionilamino]-1-oxo-1H-isoquinolin-2-il}-3-metil-butiramidaa. (R)-2-(5-Amino-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)-3-metilbutanamida

Se calentaron a reflujo 5-nitro-isocromen-1-ona (2 g, 0,01 mol) y H-D-Val-NH₂HCl (1,9 g, 0,012 mol) en metanol (40 ml, 1 mol) con trietilamina (5 g, 0,05 mol) durante 2 horas. Los volátiles se retiraron por medio de un rotavapor y el residuo se purificó por medio de cromatografía en columna ultrarrápida (40 g de gel de sílice, EtOAc al 0-

30 %/hexano) para proporcionar un sólido de color amarillo. EM m/z 290,2 (M+H)⁺.

b. (R)-2-(5-Amino-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)-3-metilbutanamida

Se agitó (R)-2-(5-amino-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)-3-metilbutanamida (1,38 g, 0,00477 mol) con paladio al 10 % en peso sobre carbonato de calcio (0,2 g, 0,0001 mol) en metanol (60 ml, 1 mol) en atmósfera de hidrógeno (globo) durante 1 h a temperatura ambiente. El catalizador se filtró, el filtrado se concentró a sequedad para proporcionar un sólido de color marrón. m/z 260,2 (M+H)⁺.

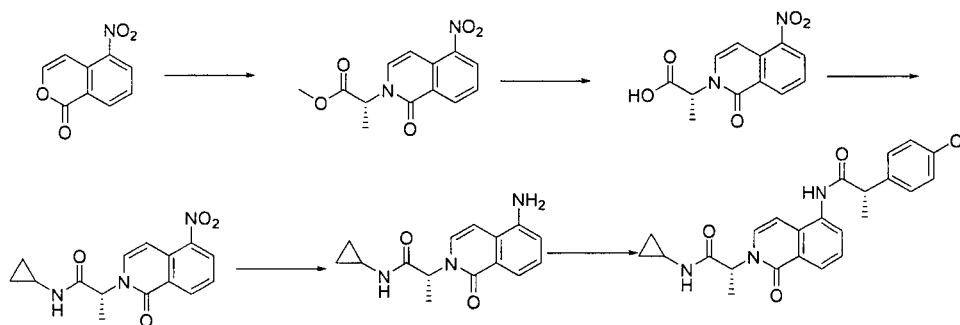
c. (R)-2-(5-((R)-2-(4-Clorofenil)propanamido)-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)-3-metilbutanamida

Se agitaron (R)-2-(5-amino-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)-3-metilbutanamida (0,2 g, 0,0007 mol), ácido (R)-2-(4-clorofenil)propanoico (0,16 g, 0,00088 mol), hexafluorofosfato de *N,N,N',N'*-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio (0,33 g, 0,00088 mol), *N,N*-diisopropiletilamina (0,4 g, 0,003 mol), en *N,N*-dimetilformamida (3 ml, 0,04 mol) a temperatura ambiente durante un fin de semana. La mezcla de reacción se diluyó con CH₂Cl₂ (100 ml), se lavó con NaHCO₃ (20 ml, 3 veces), se secó sobre Na₂SO₄, se purificó por medio de cromatografía ultrarrápida (12 g de gel de sílice, EtOAc al 0-90 %/hexano) y entonces la HPLC prep proporcionó un sólido de color blanco. RMN ¹H δ (CDCl₃) δ: 8,24 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 7,99 (t, *J* = 7,2 Hz, 1H), 7,53-7,33 (m, 6H), 7,07 (a, 1H), 6,26 (a, 1H), 6,06-6,03 (m, 1H), 5,31 (a, 1H), 5,14 (d, *J* = 11,4 Hz, 1H), 3,82 (c, *J* = 7,2 Hz, 1H), 2,55-2,48 (m, 1H), 1,62 (d, *J* = 11,1 Hz, 3H), 1,13 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H), 0,76 (dd, *J* = 2,1, 6,6 Hz, 3H). EM m/z 426,2 (M+H)⁺.

Procedimiento V

(Compuesto 308)

(R)-2-{5-[(S)-2-(4-Cloro-fenil)-propionilamino]-1-oxo-1H-isoquinolin-2-il}-N-ciclopropil-propionamida



a. 2-(5-Nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanoato de (R)-metilo

Se calentaron a reflujo 5-nitro-isocromen-1-ona (5 g, 0,03 mol) y éster metílico de D-alanina (4 g, 0,04 mol), en metanol (40 ml, 1 mol) durante 2 horas. Los volátiles se retiraron por medio de un rotavapor y el residuo se purificó por medio de cromatografía en columna ultrarrápida (330 g de gel de sílice, EtOAc al 0-50 %/hexano) para proporcionar un sólido de color amarillo. EM m/z 277,2 (M+H)⁺.

b. Ácido (R)-2-(5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanoico

Se calentaron a reflujo 2-(5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanoato de (R)-metilo (5,2 g, 0,019 mol) y yoduro de litio (10 g, 0,08 mol) en acetato de etilo (200 ml, 2 mol) durante 64 horas. El sólido se filtró y el filtrado se concentró y proporcionó un sólido de color marrón. EM m/z 264,1 (M+H)⁺.

c. (R)-N-Ciclopropil-2-(5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanamida

Se agitaron ácido (R)-2-(5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanoico (3 g, 0,01 mol), hidrato de 1-hidroxibenzotriazol (2,1 g, 0,014 mol), clorhidrato de *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N'*-etilcarbodiimida (2,6 g, 0,014 mol), *N,N*-diisopropiletilamina (4 g, 0,03 mol), en cloruro de metileno (100 ml, 2 mol) a temperatura ambiente durante 16 horas. La mezcla de reacción se diluyó con CH₂Cl₂ (200 ml), se lavó con NaHCO₃ sat, se secó sobre MgSO₄, se filtró, se purificó por medio de cromatografía ultrarrápida (40 g de gel de sílice, EtOAc al 0-50 %/hexano) y proporcionó un sólido de color amarillo. EM m/z 302,3 (M+H)⁺.

d. (R)-2-(5-Amino-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)-N-ciclopropilpropanamida

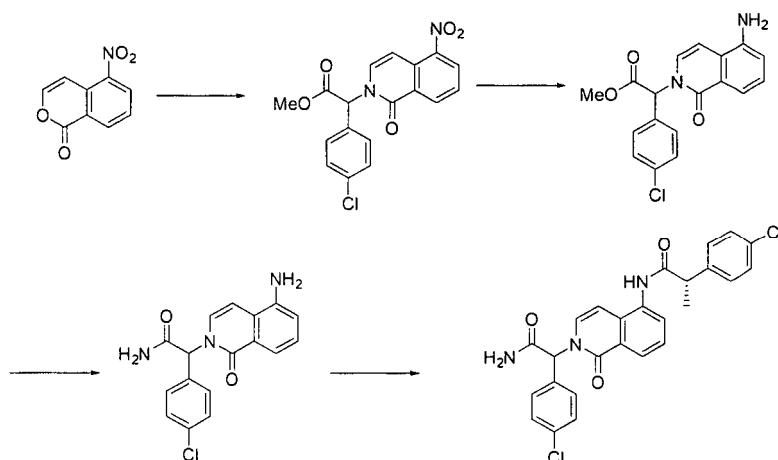
Se agitó (R)-N-ciclopropil-2-(5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanamida (0,6 g, 0,002 mol) con paladio al 10 % en peso sobre carbonato de calcio (0,1 g, 0,00005 mol) en metanol (30 ml, 0,7 mol) en atmósfera de hidrógeno (globo) durante 1 h a temperatura ambiente. El catalizador se filtró, el filtrado se concentró a sequedad y proporcionó un sólido de color marrón. EM m/z 271,7 (M+H)⁺.

e. (S)-2-(4-Clorofenil)-N-(2-((R)-1-(ciclopropilamino)-1-oxopropan-2-il)-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-5-il)proanamida

Se agitaron (R)-2-(5-amino-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)-N-ciclopropilpropanamida (0,2 g, 0,0007 mol), ácido (S)-2-(4-clorofenil)propanoico (0,16 g, 0,00088 mol), hexafluorofosfato de *N,N,N',N'*-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio (0,33 g, 0,00088 mol), *N,N*-diisopropiletilamina (0,4 g, 0,003 mol), en *N,N*-dimetilformamida (3 ml, 0,04 mol) a temperatura ambiente durante un fin de semana. La mezcla de reacción se diluyó con CH_2Cl_2 (100 ml), se lavó con NaHCO_3 (20 ml, 3 veces), se secó sobre Na_2SO_4 , se purificó por medio de cromatografía ultrarrápida (12 g de gel de sílice, EtOAc al 0-90 %/hexano) y después la HPLC preparativa proporcionó un sólido de color blanco. RMN ^1H δ (CDCl_3) δ : 8,23 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H), 7,95 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H), 7,52-7,39 (m, 5H), 7,22 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H), 7,09 (a, 1H), 6,44 (a, 1H), 6,06-6,03 (m, 1H), 5,58 (c, $J = 7,0$ Hz, 1H), 3,83 (c, $J = 6,7$ Hz, 1H), 2,63 (a, 1H), 1,64 (d, $J = 7,2$ Hz, 3H), 1,56 (d, $J = 5,2$ Hz, 3H), 0,78-0,67 (m, 2H), 0,51-0,40 (m, 2H). EM m/z 438,3 (M+H)⁺.

Procedimiento W

(Compuesto 315)

(S)-N-{2-[Carbamoil-(4-cloro-fenil)-metil]-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il}-2-(4-cloro-fenil)-propionamida15 a. 2-(4-Clorofenil)-2-(5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)acetato de metilo

Un matraz de fondo redondo se cargó con 5-nitro-isocromen-1-ona (2,5 g, 0,013 mol), metanol (40 ml, 1 mol), trietilamina (4 ml, 0,03 mol) y clorhidrato de 2-amino-2-(4-clorofenil)acetato de metilo (4,0 g, 0,017 mol) y la reacción se calentó a 50 °C durante 4 horas. El disolvente se retiró y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (40 g de gel de sílice, MOH al 0-10 %/DCM) para proporcionar el producto en forma de un sólido de color amarillo. EM $m/z = 373,3$ (M+H).

20 b. 2-(5-Amino-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)-2-(4-clorofenil)acetato de metilo

Un matraz de fondo redondo se cargó con 2-(4-clorofenil)-2-(5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)acetato de metilo (4,2 g, 0,011 mol), etanol (60 ml, 1 mol) y se añadió cloruro de amonio (6 g, 0,1 mol) en agua (60 ml, 3 mol) y la reacción se calentó a 80 °C y se añadió hierro (2 g, 0,04 mol) en cuatro porciones separadas por 5 minutos. La reacción se calentó durante otra 1 h a esa temperatura y se enfrió a temperatura ambiente y se vertió en 200 ml de diclorometano y se extrajo. El disolvente se retiró para obtener el producto en forma de un sólido de color marrón claro. EM $m/z = 343,0$ (M+H).

25 c. 2-(5-Amino-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)-2-(4-clorofenil) acetamida

Un tubo de presión se cargó con 2-(5-amino-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)-2-(4-clorofenil)acetato de metilo (1,35 g, 0,00394 mol) y se añadió amoníaco en metanol (7 ml, solución 2 M) y la reacción se calentó a 70 °C durante 16 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se comprobó la finalización. La reacción se completó solo al 20 %. El calentamiento adicional de la reacción durante otras 6 horas no pareció ayudar en el progreso de la reacción. El disolvente se retiró y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida para obtener el producto en forma de un sólido de color amarillo claro. EM $m/z = 328,2$ (M+H).

30 d. (2S)-N-(2-(2-Amino-1-(4-clorofenil)-2-oxoetil)-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-5-il)-2-(4-clorofenil)propanamida

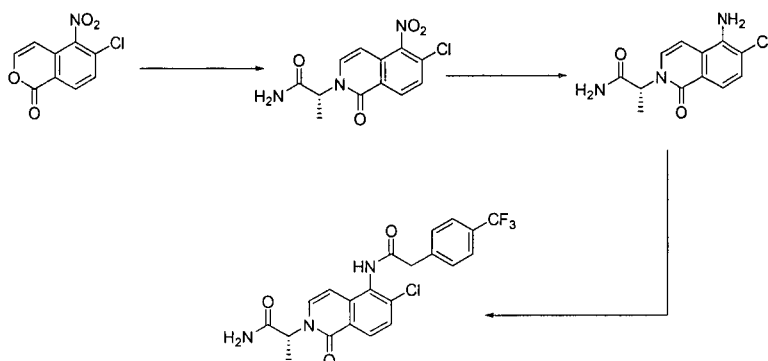
Un matraz de fondo redondo se cargó con 2-(5-amino-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)-2-(4-clorofenil)acetamida (100 mg, 0,3°mmol), *N,N*-dimetilformamida (1 ml, 10°mmol), *N,N*-diisopropiletilamina (0,1 ml, 0,6°mmol), hexafluorofosfato de *N,N,N',N'*-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio (200 mg, 0,6°mmol) y ácido (S)-2-(4-clorofenil)propanoico (68 mg, 0,37°mmol) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El disolvente se retiró y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (12 g de gel de sílice, MeOH al 0-10 %/DCM) seguida de

HPLC preparativa (fase inversa) para obtener el producto en forma de un sólido de color blanquecino. EM $m/z = 477,1$ (M+H). ^1H RMN (400 MHz; DMSO- d_6) δ 9,97 (s, 1H), 8,12-8,10 (d, $J = 8,18$ Hz, 1H), 8,03 (s, 1H), 7,75-7,70 (dd, $J = 8,18$ y 5,63 Hz, 1H), 7,59 (s, 1H), 7,501-7,34 (m, 9H), 7,03-7,00 (d, $J = 8,01$ Hz, 1H), 6,71 (s, 1H), 6,40-6,38 (d, $J = 8,27$ Hz, 1H), 4,00-3,94 (c, $J = 6,97$ Hz, 1H), 1,44-1,41 (d, $J = 7,11$ Hz, 3H).

5 Procedimiento X

(Compuesto 316)

(R)-2-(6-Cloro-1-oxo-5-[2-(4-trifluorometil-fenil)-acetilamino]-1H-isoquinolin-2-il)-propionamida



a. (R)-2-(6-Cloro-5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanamida

- 10 Un matraz de fondo redondo se cargó con 6-cloro-5-nitro-1H-isocromen-1-ona (950 mg, 0,0042 mol), metanol (30 ml, 0,7 mol), trietilamina (0,64 ml, 0,0046 mol) y clorhidrato de (R)-2-aminopropanamida (0,58 g, 0,0046 mol) y la reacción se calentó a 55 °C durante la noche. La reacción se completó al 90 %. El disolvente se retiró y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (40 g de gel de sílice, MeOH al 0-10 %/DCM) para obtener el producto puro en forma de un sólido de color amarillo claro. EM $m/z = 296,4$ (M+H).

15 b. (R)-2-(5-Amino-6-cloro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanamida

- Un matraz de fondo redondo se cargó con (R)-2-(6-cloro-5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanamida (120 mg, 0,00040 mol), etanol (4 ml, 0,07 mol) y se añadió cloruro de amonio (200 mg, 0,004 mol) en agua (4 ml, 0,2 mol) y la reacción se calentó a 85 °C y se añadió hierro (90 mg, 0,002 mol) en dos porciones separadas por 5 minutos. La reacción se agitó a esa temperatura durante 30 minutos y se añadió acetato de etilo y se decantó. El disolvente se retiró para obtener el producto en forma de un sólido de color amarillo. EM $m/z = 266,2$ (M+H).

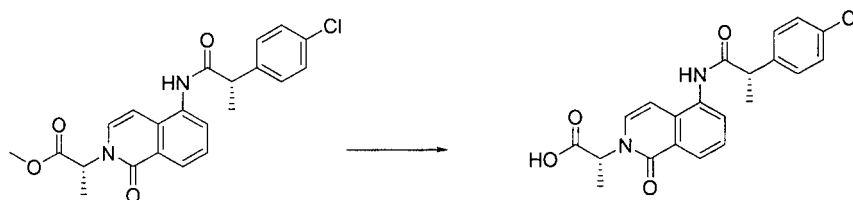
20 c. (R)-2-(6-cloro-1-oxo-5-(2-(4-(trifluorometil)fenil)acetamido)isoquinolin-2(1H)-il)propanamida

- Un matraz de fondo redondo se cargó con (R)-2-(5-amino-6-cloro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanamida (50 mg, 0,0002 mol), *N,N*-dimetilformamida (1 ml, 0,01 mol), *N,N*-diisopropiletilamina (60 ml, 0,0004 mol), hexafluorofosfato de *N,N,N',N'*-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio (100 mg, 0,0004 mol) y ácido 2-(4-(trifluorometil)fenil)acético (46 mg, 0,00022 mol) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La reacción se completó solo al 60 %. La agitación durante 6 horas adicionales no mejoró la reacción. El disolvente se retiró y el residuo se purificó mediante HPLC (fase inversa) preparativa para obtener el producto en forma de un sólido de color blanquecino. EM $m/z = 452,2$ (M+H). RMN ^1H (400 MHz; DMF) δ 10,41 (s, 1H), 8,34 (d, $J = 8,71$ Hz, 1H), 7,93 (d, $J = 8,22$ Hz, 1H), 7,84 (d, $J = 10,96$ Hz, 1H), 7,80 (t, $J = 9,13$ Hz, 1H), 7,68 (d, $J = 8,53$ Hz, 1H), 7,44 (s, 1H), 6,62 (d, $J = 7,89$ Hz, 1H), 5,67-5,61 (c, $J = 7,24$ Hz, 1H), 4,09 (s, 2H), 1,72 (d, $J = 7,50$ Hz, 3H).

Procedimiento Y

(Compuesto 322)

Ácido (R)-2-[5-[(S)-2-(4-cloro-fenil)-propionilamino]-1-oxo-1H-isoquinolin-2-il]-propiónico



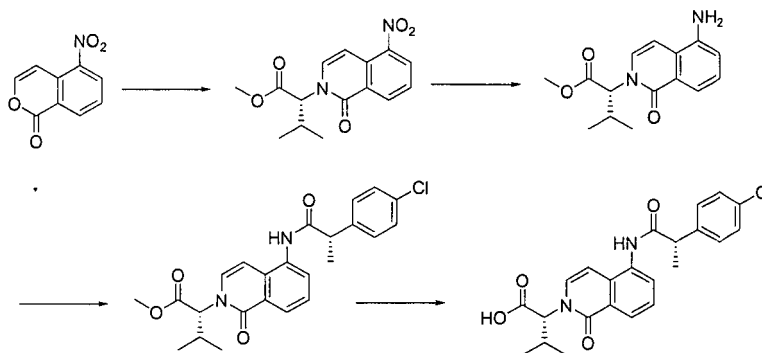
a. Ácido (R)-2-(5-((S)-2-(4-clorofenil)propanamido)-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanoico

5 Se agitó 2-(5-((S)-2-(4-clorofenil)propanamido)-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanoato de (R)-metilo (0,23 g, 0,00050 mol) con hidróxido de litio (0,03 g, 0,001 mol) en alcohol *tert*-butílico (4 ml, 0,04 mol) y agua (2 ml, 0,1 mol) a 0 °C durante 1 hora. Se añadió HCl 1 N hasta pH < 7 y la mezcla de reacción se extrajo con CH₂Cl₂ (40 ml, 3 veces). Las fases orgánicas se secaron sobre MgSO₄, se filtraron, se purificaron por medio de cromatografía ultrarrápida (12 g de gel de sílice, EtOAc al 0-50 %/hexano) y proporcionaron un sólido de color amarillo claro. RMN ¹H δ (CDCl₃) δ: 8,05-8,01 (m, 1H), 7,89-7,62 (m, 2H), 7,38-7,29 (m, 5H), 6,89-6,80 (m, 1H), 6,04-5,94 (m, 1H), 5,348-5,39 (m, 1H), 3,86 (d, *J* = 6,6 Hz, 1H), 3,03-2,88 (m, 6H). EM m/z 399,0 (M+H)⁺.

Procedimiento Z

10 (Compuesto 323)

Ácido (R)-2-{5-[(S)-2-(4-cloro-fenil)-propionilamino]-1-oxo-1H-isoquinolin-2-il}-3-metil-butírico



a. 3-Metil-2-(5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)butanoato de (R)-metilo

15 Se calentaron a reflujo 5-nitro-isocromen-1-ona (5 g, 0,03 mol) y clorhidrato de éster metílico de D-valina (5 g, 0,03 mol), en metanol (40 ml, 1 mol) con trietilamina (5 g, 0,05 mol) durante 2 horas. Los volátiles se retiraron por medio de un rotavapor y el residuo se purificó por medio de cromatografía en columna ultrarrápida (40 g de gel de sílice, EtOAc al 0-30 %/hexano) y proporcionó un aceite de color marrón. EM m/z 305,2 (M+H)⁺.

b. 2-(5-Amino-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)-3-metilbutanoato de (R)-metilo

20 Se agitó 3-metil-2-(5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)butanoato de (R)-metilo (2,8 g, 0,0091 mol) con paladio al 10 % en peso sobre carbonato de calcio (0,23 g, 0,00011 mol) en metanol (40 ml, 1 mol) en atmósfera de hidrógeno (globo) durante 1 h a temperatura ambiente. El catalizador se filtró, el filtrado se concentró a sequedad y proporcionó un aceite de color amarillo. EM m/z 274,8 (M+H)⁺.

c. 2-(5-((S)-2-(4-Clorofenil)propanamido)-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)-3-metilbutanoato de (R)-metilo

25 Se agitaron 2-(5-amino-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)-3-metilbutanoato de (R)-metilo (0,3 g, 0,001 mol), ácido (S)-2-(4-clorofenil)propanoico (0,4 g, 0,002 mol), hexafluorofosfato de *N,N,N',N'*-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio (0,8 g, 0,002 mol), *N,N*-diisopropiletilamina (0,6 g, 0,004 mol), en *N,N*-dimetilformamida (3 ml, 0,04 mol) a temperatura ambiente durante un fin de semana. La mezcla de reacción se diluyó con CH₂Cl₂ (100 ml), se lavó con NaHCO₃ (20 ml, 3 veces), se secó sobre Na₂SO₄, se purificó por medio de cromatografía ultrarrápida (12 g de gel de sílice, EtOAc al 0-90 %/hexano) y después la HPLC preparativa proporcionó un aceite de color amarillo claro. EM m/z 441,3 (M+H)⁺.

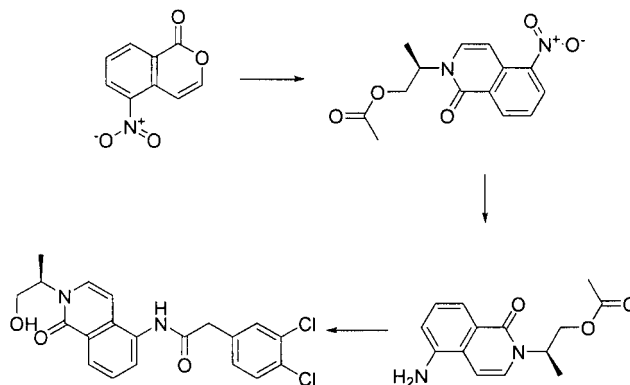
d. Ácido (R)-2-(5-((S)-2-(4-clorofenil)propanamido)-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)-3-metilbutanoico

35 Se agitó 2-(5-((S)-2-(4-clorofenil)propanamido)-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)-3-metilbutanoato de (R)-metilo (0,43 g, 0,00088 mol) con hidróxido de litio (0,05 g, 0,002 mol) en alcohol *tert*-butílico (6 ml, 0,06 mol) y agua (3 ml, 0,2 mol) a 0 °C durante 1 hora. Se añadió HCl 1 N hasta pH < 7 y después la mezcla de reacción se extrajo con CH₂Cl₂ (40 ml, 3 veces). Las fases orgánicas se secaron sobre MgSO₄, se filtraron, se purificaron por medio de cromatografía ultrarrápida (12 g de gel de sílice, EtOAc al 0-50 %/hexano) y proporcionaron un sólido de color amarillo claro. RMN ¹H δ (CDCl₃) δ: 8,17 (a, 1H), 7,86 (a, 1H), 7,52-7,29 (m, 6H), 7,03 (a, 1H), 6,09-6,05 (m, 1H), 5,00-4,87 (m, 1H), 3,87-3,82 (m, 1H), 2,70-2,60 (m, 1H), 1,64 (d, *J* = 7,0 Hz, 3H), 1,14 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H), 0,78 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H). EM m/z 427,1 (M+H)⁺.

40

Procedimiento AA1

(Compuesto 333)

2-(3,4-Dicloro-fenil)-N-[2-((R)-2-hidroxi-1-metil-etil)-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-acetamida5 **a. Acetato de (R)-2-(5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo**

Una mezcla de 5-nitro-1-ona-isocromen (6,81 g, 0,0320 mol), (2R)-2-aminopropan-1-ol (5,0 ml, 0,064 mol) y metanol (210 ml, 5,1 mol) se calentó a reflujo durante 1 hora. Se añadieron 10 ml de trietilamina y la temperatura de reacción se bajó a 60 °C y se agitó a esta temperatura durante 3 horas. El análisis por CL-EM mostró que el material de partida se consumió. La mezcla de reacción se redujo al vacío y el matraz de reacción se colocó al alto vacío durante 1 hora. El residuo de color negro se recogió en una mezcla de cloruro de metileno (200 ml, 2 mol) y *N,N*-dimetilformamida (7,6 ml, 0,098 mol). Se añadieron cloruro de acetilo (9,1 ml, 0,13 mol) y *N,N*-diisopropiletilamina (14 ml, 0,078 mol) y la reacción se dejó en agitación a 40 °C durante 5 horas. El análisis por CL-EM mostró que la reacción no llegó a la finalización. Se añadieron dos equivalentes de cloruro de acetilo y 1 equivalente de *N,N*-diisopropilamina y la reacción se dejó en agitación durante la noche a temperatura ambiente. Después de que el análisis mostrara que se había consumido menos del 50 % del material de partida, se añadieron 4 equivalentes más de cloruro de acetilo y 2 equivalentes de *N,N*-diisopropiletilamina y la temperatura de reacción se subió a 40 °C. La reacción se dejó en agitación durante 4 horas más. El análisis por CL-EM mostró la presencia de aproximadamente el 5 % de material sin reaccionar. El matraz se enfrió a temperatura ambiente y se redujo al vacío. El residuo de color amarillo oscuro se recogió en 300 ml de acetato de etilo y se lavó 3 veces con 50 ml de agua. Se añadió solución saturada de cloruro de sodio para eliminar cualquier emulsión formada entre las fases. La mayor parte del producto deseado se quedó en la fase orgánica, aunque una cantidad mínima estaba en la fase acuosa. La fase orgánica se secó con sulfato de sodio y se redujo al vacío para producir un aceite de color parduzco-amarillo que se purificó por medio de cromatografía ultrarrápida usando una columna de sílice de fase normal de 120 g y un gradiente de acetato de etilo:hexano (0-60 %). Las fracciones puras se recogieron y los volátiles se retiraron a presión reducida para proporcionar un aceite de color amarillo.

M+1 = 291,0 RMN-¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8,63 (dc, 1H), 8,48 (dd, 1H), 7,83 (d, 1H, J = 8,02 Hz), 7,69 (t, 1H, J = 8,02 Hz), 7,09 (dd, 1H, J = 8,02 Hz), 5,32-5,22 (m, 1H), 4,33 (d, 2H, J = 6,26 Hz), 1,93 (s, 3H), 1,40 (d, 3H, J = 7,11 Hz).

b. (R)-2-(5-Amino-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il) propil acetato de etilo

A una suspensión de acetato de (R)-2-(5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo (5,34 g, 0,0184 mol) en etanol (100 ml, 2 mol) se le añadió cloruro de amonio (9,840 g, 0,1840 mol) en agua (100 ml, 6 mol). La reacción se calentó a 85 °C y se añadió hierro (4,11 g, 0,0736 mol) en cuatro porciones separadas por 3 minutos. La reacción comenzó a ponerse oscura y se volvió completamente de color marrón. Después de 2 horas, el matraz se retiró del baño de aceite y se añadieron 150 ml de acetato de etilo en el matraz. La fase orgánica se decantó y la fase acuosa se extrajo de nuevo con acetato de etilo. Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron a presión reducida para proporcionar un aceite de color amarillo brillante.

M+1 = 261,1 RMN-¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,43 (d, 1H, J = 7,81 Hz), 7,38 (d, 1H, J = 7,82 Hz), 7,16 (t, 1H, J = 7,85 Hz), 6,85 (dd, 1H, J = 7,92 Hz), 7,78 (d, 1H, J = 7,80 Hz), 5,67 (s, 2H), 5,30-5,21 (m, 1H), 4,29 (d, 2H, J = 6,50 Hz), 1,91 (s, 3H), 1,34 (d, 3H, J = 7,08 Hz).

40 **c. (R)-2-(3,4-Diclorofenil)-N-(2-(1-hidroxiopropan-2-il)-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-5-il)acetamida**

A una solución de acetato de (R)-2-(5-amino-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo (100 mg, 0,0004 mol) en cloruro de metileno (2 ml, 0,03 mol) se le añadieron ácido 3,4-diclorofenil acético (120 mg, 0,00058 mol), hexafluorofosfato de *N,N,N',N'*-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio (360 mg, 0,00096 mol) y *N,N*-diisopropiletilamina (300 µl, 0,002 mol). La mezcla de reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente, la mezcla se purificó mediante cromatografía en columna usando un gradiente de acetato de etilo:hexano (0-40 %). Las fracciones puras combinadas se redujeron al vacío y se recogieron en metanol (3 ml, 0,07 mol), se añadieron carbonato de potasio

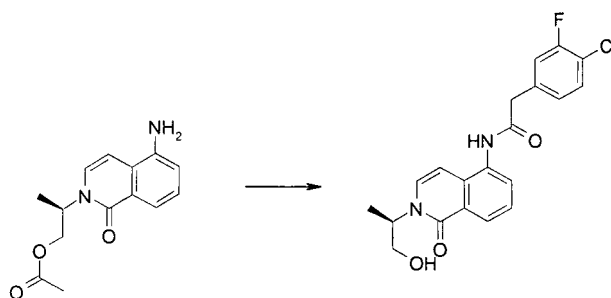
(200 mg, 0,001 mol) y unas pocas gotas de agua, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una hora. A esto le siguió la purificación usando cromatografía en columna (acetato de etilo:hexano, 0-100 %) produciendo de este modo el compuesto del título.

5 RMN-¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10,06 (s, 1H), 8,08 (d, 1H, *J* = 8,03 Hz), 7,79 (d, 1H, *J* = 7,84 Hz), 7,65 (d, 1H, *J* = 1,87 Hz), 7,62 (d, 1H, *J* = 8,21 Hz), 7,52 (d, 1H, *J* = 7,82 Hz), 7,44 (t, 1H, *J* = 7,95 Hz), 7,38 (dd, 1H, *J* = 8,34 Hz), 6,64 (d, 1H, *J* = 7,89 Hz), 5,08-5,00 (m, 1H), 4,93 (t, 1H, *J* = 5,41 Hz), 3,81 (s, 2H), 3,69-3,57 (m, 2H), 1,29 (d, 3H, *J* = 7,00 Hz).

Procedimiento AA2

(Compuesto 330)

10 **2-(4-Cloro-3-fluorofenil)-N-[2-((R)-2-hidroxi-1-metil-etil)-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-acetamida**



a. (R)-2-(4-Cloro-3-fluorofenil)-N-[2-(1-hidroxipropan-2-il)-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-5-il]acetamida

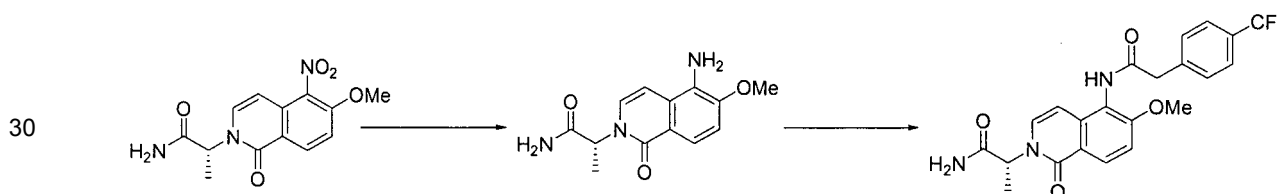
A una solución de acetato de (R)-2-(5-amino-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo (800 mg, 0,003 mol) en cloruro de metileno (20 ml, 0,2 mol) se le añadió ácido 2-(4-cloro-3-fluorofenil)acético (870 mg, 0,0046 mol), hexafluorofosfato de *N,N,N',N'*-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio (2900 mg, 0,0077 mol) y *N,N*-diisopropiletilamina (3000 µl, 0,02 mol). La mezcla de reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente y después se concentró. Se añadieron metanol (20 ml, 0,6 mol) y carbonato de potasio (1000 mg, 0,009 mol) y la mezcla se dejó en agitación a temperatura ambiente durante una hora. Los volátiles se retiraron y el residuo se recogió en cloruro de metileno (100 ml). La mezcla se lavó con solución de NaHCO₃ acuosa (150 ml), salmuera (150 ml) y agua (200 ml). Las fases se separaron y los extractos orgánicos se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron a presión reducida, después la mezcla se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (acetato de etilo:hexanos, 0-40 %). Las fracciones puras combinadas se redujeron al vacío para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo. M+1 = 389,1.

15 RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10,06 (s, 1H), 8,08 (d, 1H, *J* = 7,98 Hz), 7,79 (dd, 1H, *J* = 7,94 Hz), 7,57 (t, 1H, *J* = 8,15 Hz), 7,52 (d, 1H, *J* = 7,85 Hz), 7,46-7,41 (m, 2H), 7,25 (dd, 1H, *J* = 8,25 Hz), 6,64 (d, 1H), 5,08-5,00 (m, 1H), 4,93 (t, 1H, *J* = 5,38 Hz), 3,82 (s, 2H), 3,69-3,57 (m, 2H), 1,29 (d, 3H, *J* = 7,04 Hz).

Procedimiento AB

(Compuesto 344, no de la invención)

(R)-2-[6-Metoxi-1-oxo-5-[2-(4-trifluorometil-fenil)-acetilamino]-1H-isoquinolin-2-il]-propionamida



a. (R)-2-(5-Amino-6-metoxi-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanamida

Una mezcla de (R)-2-(6-metoxi-5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanamida (200 mg, 0,0007 mol), metanol (20 ml, 0,5 mol) y paladio, al 10 % en peso sobre carbón vegetal (21 mg, 0,00017 mol) se agitó en atmósfera de hidrógeno (1 atm) durante 3 h. la mezcla de reacción se filtró sobre celite y se retiró el disolvente para obtener el producto en forma de un sólido de color marrón. EM m/z = 263,3 (M+H).

b. (R)-2-(6-Metoxi-1-oxo-5-(2-(4-(trifluorometil)fenil)acetamido)isoquinolin-2(1H)-il)propanamida

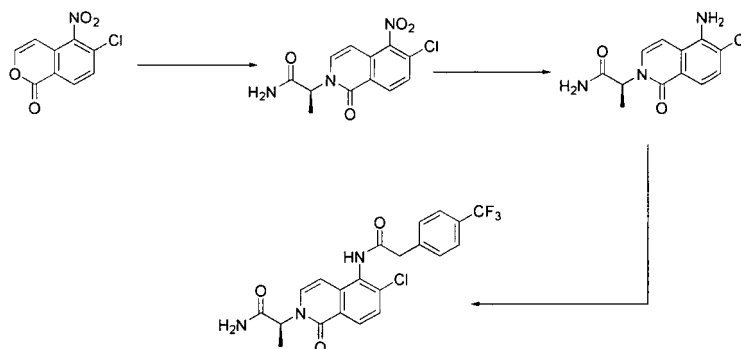
Una mezcla de (R)-2-(5-amino-6-metoxi-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanamida (98,34 mg, 0,0003764 mol), ácido 2-(4-(trifluorometil)fenil)acético (115,2 mg, 0,0005646 mol), *N,N*-diisopropiletilamina (163,9 µl, 0,0009409 mol), hexafluorofosfato de *N,N,N',N'*-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio (357,8 mg, 0,0009409 mol) y *N,N*-

dimetilformamida (2 ml, 0,02 mol) se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La reacción se completó solo al 40 %. Se retiró el disolvente y el residuo se purificó mediante HPLC preparativa (fase inversa) para obtener el producto puro en forma de un sólido de color amarillo claro. EM $m/z = 448,3$ (M+H). RMN ^1H (400 MHz; DMSO- d_6) δ 9,71 (s, 1H), 8,17 (d, $J = 8,87$ Hz, 1H), 7,74 (d, $J = 7,76$ Hz, 2H), 7,62 (d, $J = 7,76$ Hz, 2H), 7,34-7,29 (m, 2H), 7,20 (s, 1H), 6,28 (d, $J = 8,48$ Hz, 1H), 5,45 (c, $J = 7,07$ Hz, 1H), 3,90 (s, 3H), 3,84 (s, 2H), 1,49 (d, $J = 7,39$ Hz, 3H).

Procedimiento AC

(Compuesto 345)

(S)-2-[6-Cloro-1-oxo-5-[2-(4-trifluorometil-fenil)-acetilamino]-1H-isoquinolin-2-il]-propionamida



10 a. (S)-2-(6-Cloro-5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanamida

Una mezcla de 6-cloro-5-nitro-1H-isocromen-1-ona (230 mg, 0,00102 mol), clorhidrato de (S)-2-aminopropanamida (127 mg, 0,00102 mol), trietilamina (142 μl , 0,00102 mol) y metanol (20 ml, 0,5 mol) se agitó a 60 °C durante 3 horas. El disolvente se retiró y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida para obtener el producto en forma de un sólido de color amarillo. EM $m/z = 262,3$ (M+H).

15 b. (S)-2-(5-Amino-6-cloro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanamida

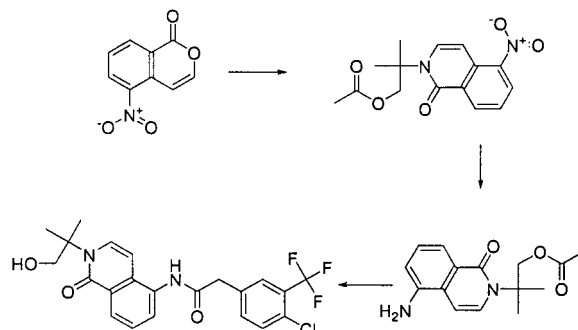
Una mezcla de (S)-2-(6-cloro-5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanamida (201 mg, 0,000679 mol), etanol (10 ml, 0,2 mol), cloruro de amonio (363,03 mg, 0,0067868 mol) y agua (10 ml, 0,6 mol) se calentó a 85 °C y se añadió hierro (152 mg, 0,00271 mol) en tres porciones separadas por 2 minutos. La reacción se agitó a esa temperatura durante 1 hora y se vertió en diclorometano (150 ml) y se separaron las fases. La fase orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio y el disolvente se retiró a presión reducida para obtener el producto puro en forma de un sólido de color amarillo claro. EM $m/z = 232,5$ (M+H).

c. (S)-2-(6-Cloro-1-oxo-5-[2-(4-(trifluorometil)fenil)acetamido]isoquinolin-2(1H)-il)propanamida

Una mezcla de (S)-2-(5-amino-6-cloro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanamida (100,0 mg, 0,0003764 mol), ácido 2-(4-(trifluorometil)fenil)acético (115,2 mg, 0,0005646 mol), *N,N*-diisopropiletilamina (163,9 μl , 0,0009409 mol), hexafluorofosfato de *N,N,N',N'*-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio (357,8 mg, 0,0009409 mol) y *N,N*-dimetilformamida (2 ml, 0,02 mol) se agitó a 60 °C durante 3 días. La reacción solo se completó aproximadamente al 40 %. El disolvente se retiró y el residuo se purificó mediante HPLC preparativa (fase inversa) para obtener el producto en forma de un sólido de color amarillo claro. EM $m/z = 452,1$ (M+H). RMN ^1H (400 MHz; DMSO- d_6) δ 10,21 (s, 1H), 8,15 (d, $J = 8,68$ Hz, 1H), 7,74 (d, $J = 7,76$ Hz, 2H), 7,66-7,58 (m, 4H), 7,49 (d, $J = 7,95$ Hz, 1H), 7,25 (s, 1H), 6,43 (d, $J = 7,50$ Hz, 1H), 5,47-5,42 (c, $J = 7,07$ Hz, 1H), 3,90 (s, 2H), 1,53 (d, $J = 7,39$ Hz, 3H).

Procedimiento AD

(Compuesto 369)

2-(4-Cloro-3-trifluorometil-fenil)-N-[2-(2-hidroxi-1,1-dimetil-etil)-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-acetamida5 **a. Acetato de 2-metil-2-(5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo**

Una mezcla de 5-nitro-isocromen-1-ona (1,02 g, 0,00480 mol), 2-amino-2-metil-1-propanol (0,921 ml, 0,00960 mol) y metanol (23 ml, 0,58 mol) y trietilamina (2 ml, 0,01 mol) se agitó durante la noche a 80 °C. El análisis por CL-EM mostró la formación del producto deseado. Los volátiles se retiraron a presión reducida y el residuo se recogió en una mezcla de cloruro de metileno (20 ml, 0,3 mol) y *N,N*-dimetilformamida (0,85 ml, 0,011 mol). Se añadieron cloruro de acetilo (1,0 ml, 0,014 mol) y *N,N*-diisopropiletilamina (1,5 ml, 0,0088 mol). La mezcla se dejó en agitación a 40 °C durante 5 horas. El matraz se enfrió a temperatura ambiente y los disolventes se retiraron al vacío. El residuo se recogió en acetato de etilo y se lavó dos veces con NaHCO₃ acuoso. La fase orgánica se secó con sulfato de sodio y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna usando un gradiente de acetato de etilo:hexano (0-100 %) para obtener el producto deseado M+1 = 263,2

15 **b. Acetato de 2-(5-Amino-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)-2-metilpropilo**

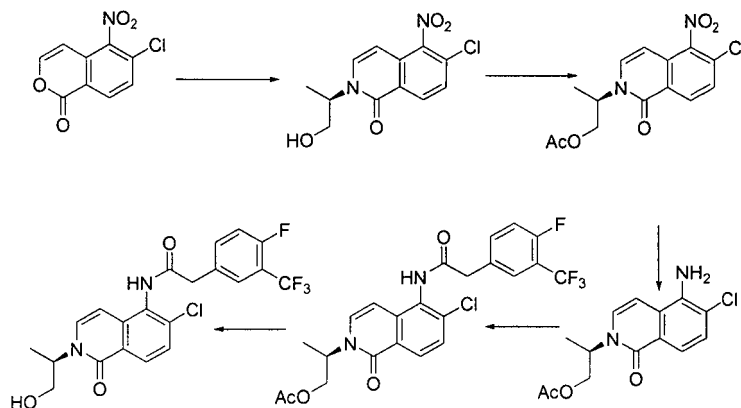
A una suspensión de acetato de 2-metil-2-(1-oxoisoquinolin-2-5-nitro(1H)-il)propilo (1,28 g, 0,00441 mol) en etanol (20 ml, 0,4 mol) se le añadió cloruro de amonio (2,359 g, 0,04410 mol) en agua (20 ml) y la reacción se calentó a 85 °C y se añadió hierro (0,985 g, 0,0176 mol) en cuatro porciones separadas por 3 minutos. La reacción comenzó a ponerse oscura y se volvió completamente de color marrón. La reacción se calentó durante 2 horas y la reacción se retiró del baño de aceite. Se añadieron 150 ml de diclorometano en el matraz y la mezcla se transfirió a un matraz Erlenmeyer, dejando la mayor parte del hierro en el matraz de reacción. Las fases se separaron y la fase orgánica se lavó dos veces con salmuera. Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y el disolvente se retiró a presión reducida para proporcionar un aceite de color amarillo brillante. M+1 = 275,0. RMN-¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,83 (d, 1H, *J* = 8,13 Hz), 7,26-7,21 (m, 2H), 6,94 (dd, 1H, *J* = 7,71 Hz), 6,42 (d, 1H, *J* = 8,11 Hz), 4,73 (s, 2H), 4,30 (s a, 2H), 1,95 (s, 3H), 1,70 (s, 6H).

25 **c. 2-(4-Cloro-3-(trifluorometil)fenil)-N-(2-(1-hdroxi-2-metilpropan-2-il)-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-5-il)acetamida**

A una solución de acetato de 2-(5-amino-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)-2-metilpropilo (90,0 mg, 0,000328 mol) en cloruro de metileno (2 ml, 0,03 mol) se le añadieron ácido 2-(4-cloro-3-(trifluorometil)fenil)acético (120 mg, 0,00049 mol), hexafluorofosfato de *N,N,N',N'*-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio (310 mg, 0,00082 mol) y *N,N*-diisopropiletilamina (300 µl, 0,002 mol). La mezcla de reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla se purificó mediante HPLC. Las fracciones puras combinadas se concentraron al vacío y se recogieron en metanol (2 ml, 0,06 mol). Se añadió carbonato de potasio (136 mg, 0,000984 mol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una hora. A esto le siguió la purificación usando HPLC produciendo de este modo el compuesto del título. RMN-¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10,06 (s, 1H), 8,06 (d, 1H, *J* = 8,09 Hz), 7,88 (d, 1H, *J* = 1,06 Hz), 7,77 (dd, 1H, *J* = 7,79 Hz), 7,73-7,67 (m, 2H), 7,51 (d, 1H, *J* = 8,16 Hz), 7,40 (t, 1H, *J* = 7,91 Hz), 6,56 (d, 1H, *J* = 8,14 Hz), 4,99 (t, 1H, *J* = 5,64 Hz), 3,91 (s, 2H), 3,88 (d, 2H, *J* = 5,69 Hz), 1,57 (s, 6H).

Procedimiento AE1

(Compuesto 377)

N-[6-Cloro-2-((R)-2-hidroxi-1-metil-etil)-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-2-(4-fluoro-3-trifluorometilfenil)-acetamida

5

a. (R)-6-Cloro-2-(1-hidroxipropan-2-il)-5-nitroisoquinolin-1(2H)-ona

Un vial de microondas se cargó con 6-cloro-5-nitro-1H-isocromen-1-ona (80,0 mg, 0,000355 mol), (2R)-2-aminopropan-1-ol (29 mg, 0,00039 mol), trietilamina (0,15 ml, 0,0011 mol) y metanol (4 ml, 0,1 mol) y se sometió a microondas a 100 °C durante 30 minutos. La reacción se completó con un 10 % de producto ciclado además del producto requerido. El disolvente se retiró y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida para obtener el producto en forma de un sólido de color amarillo claro. EM $m/z = 283,2$ (M+H). RMN ^1H (400 MHz; DMSO- d_6) δ 8,43 (d, $J = 8,86$ Hz, 1H), 7,80 (d, $J = 8,86$ Hz, 1H), 7,75 (d, $J = 7,98$ Hz, 1H), 6,36 (d, $J = 7,09$ Hz, 1H), 5,03-4,86 (m, 2H), 3,63-3,52 (m, 2H), 1,30 (d, $J = 7,0$ Hz, 3H).

10

b. Acetato de (R)-2-(6-cloro-5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo

Una mezcla de (R)-6-cloro-2-(1-hidroxipropan-2-il)-5-nitroisoquinolin-1(2H)-ona (750,0 mg, 0,002653 mol), anhídrido acético (0,325 ml, 0,00345 mol), piridina (0,322 ml, 0,00398 mol) y cloruro de metileno (20 ml, 0,3 mol) se calentó a 45 °C durante la noche. El disolvente se retiró a presión reducida y se secó para obtener el producto puro en forma de un aceite espeso de color amarillo. EM $m/z = 325,4$ (M+H). RMN ^1H (400 MHz; DMSO) δ 8,42 (d, $J = 8,61$ Hz, 1H), 7,47 (d, $J = 8,61$ Hz, 1H), 7,23 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H), 6,29 (d, $J = 8,03$ Hz, 1H), 5,34-5,29 (m, 1H), 4,28-4,20 (m, 2H), 1,94 (s, 3H), 1,40 (d, $J = 6,96$ Hz, 3H).

20

c. Acetato de (R)-2-(5-Amino-6-cloro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo

Un matraz de fondo redondo se cargó con acetato de (R)-2-(6-cloro-5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo (160,0 mg, 0,0004927 mol) y etanol (7 ml, 0,1 mol) y la reacción se calentó a 85 °C. Después se añadió cloruro de amonio (264 mg, 0,00493 mol) en agua (7 ml, 0,4 mol) seguido de la adición de hierro (110 mg, 0,0020 mol) en dos porciones. La reacción se calentó a esta temperatura durante otra hora. La mezcla de reacción se vertió en diclorometano (60 ml) y se extrajo. Los extractos se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio y el disolvente se retiró a presión reducida para obtener el producto en forma de un sólido incoloro. EM $m/z = 295,5$ (M+H).

25

d. Acetato de (R)-2-(6-cloro-5-(2-(4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil)acetamido)-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo

Un vial de reacción se cargó con acetato de (R)-2-(5-amino-6-cloro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo (210 mg, 0,00071 mol), ácido 2-(4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil)acético (300 mg, 0,001 mol), hexafluorofosfato de N,N,N',N' -tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio (600 mg, 0,002 mol), N,N -diisopropiletilamina (600 μl , 0,003 mol) y la reacción se agitó a 50 °C durante 5 días. En este punto, la reacción se completó solo al 50 %. El disolvente se retiró y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida para obtener el producto en forma de un aceite de color amarillo claro. EM $m/z = 499,3$ (M+H).

30

e. (R)-N-(6-Cloro-2-(1-hidroxipropan-2-il)-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-5-il)-2-(4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil)acetamida

Un matraz de fondo redondo se cargó con acetato de (R)-2-(6-cloro-5-(2-(4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil)acetamido)-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo (250 mg, 0,00050 mol), carbonato de potasio (100 mg, 0,00075 mol) y metanol (8 ml, 0,2 mol) y 2 gotas de agua. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. La mezcla de reacción se filtró, se lavó con metanol. El disolvente se retiró y el residuo se purificó mediante HPLC preparativa (fase inversa) para obtener el producto en forma de un sólido de color blanco (aproximadamente 150 mg). EM $m/z = 457,4$ (M+1). RMN ^1H (400 MHz; DMSO) δ 10,17 (s, 1H), 8,16 (d, $J = 8,85$ Hz, 1H), 7,82 (d, $J = 7,76$ Hz, 1H), 7,72-7,74 (m,

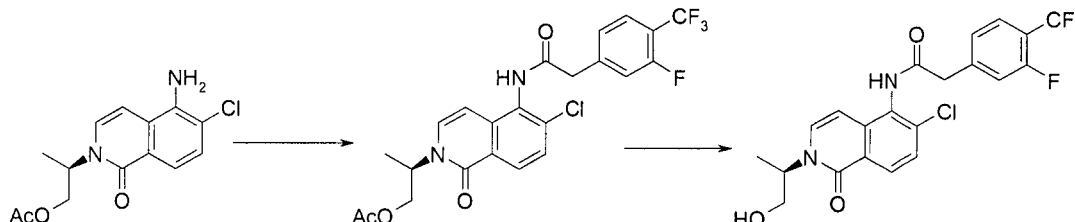
40

1H), 7,59 (d, $J = 8,84$ Hz, 1H), 7,54-7,49 (m, 2H), 6,42 (d, $J = 7,50$ Hz, 1H), 5,03-4,93 (m, 2H), 3,90 (s, 2H), 3,66-3,56 (m, 2H), 1,28 (d, $J = 7,63$ Hz, 3H).

Procedimiento AE2

(Compuesto 375)

- 5 N-[6-Cloro-2-((R)-2-hidroxi-1-metil-etil)-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-2-(3-fluoro-4-trifluorometil-fenil)-acetamida



a. Acetato de (R)-2-(6-Cloro-5-(2-(3-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)acetamido)-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo

- 10 Un vial se cargó con acetato de (R)-2-(5-amino-6-cloro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo (160 mg, 0,00054 mol), cloruro de metileno (10 ml, 0,2 mol), ácido 2-(3-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)acético (145 mg, 0,000651 mol), hexafluorofosfato de *N,N,N',N'*-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio (413 mg, 0,00108 mol) y *N,N*-diisopropiletilamina (0,189 ml, 0,00108 mol) y se agitó a 40 °C durante 2 días. La reacción se completó solamente al 50 %. El disolvente se retiró y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (acetato de etilo al 0-75 %/hexano) para obtener el producto en forma de un aceite incoloro. EM $m/z = 499,3$ (M+H)

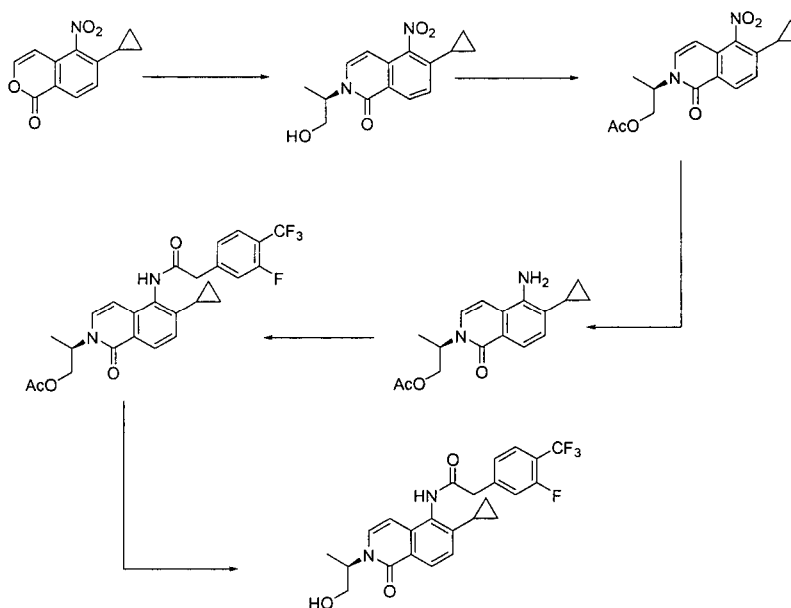
b. (R)-N-(6-Cloro-2-(1-hidroxiopropan-2-il)-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-5-il)-2-(3-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)acetamida

- 15 Un matraz de fondo redondo se cargó con acetato de (R)-2-(6-cloro-5-(2-(3-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)acetamido)-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo (1,200 g, 0,002406 mol), carbonato de potasio (0,997 g, 0,00722 mol) y metanol (20 ml, 0,5 mol) y 2 gotas de agua. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora momento en el que la reacción se había completado. La mezcla de reacción se filtró sobre Na_2SO_4 y se lavó repetidamente con metanol. El disolvente se retiró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida para obtener el producto en forma de un sólido de color blanco. EM $m/z = 457,3$ (M+H). RMN ^1H (400 MHz, DMSO-d_6): δ 10,20 (s, 1H), 8,17 (d, $J = 8,54$ Hz, 1H), 7,79 (t, $J = 8,21$ Hz, 1H), 7,60 (d, $J = 8,87$ Hz, 1H), 7,56-7,51 (m, 2H), 7,45 (d, $J = 8,54$ Hz, 1H), 6,44 (d, $J = 7,90$ Hz, 1H), 5,03-4,99 (m, 1H), 4,94 (t, $J = 5,21$ Hz, 1H), 3,94 (s, 2H), 3,68-3,56 (m, 2H), 1,28 (d, $J = 7,51$ Hz, 3H).

Procedimiento AF1

- 25 (Compuesto 384)

N-[6-Ciclopropil-2-((R)-2-hidroxi-1-metil-etil)-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-2-(3-fluoro-4-trifluorometil-fenil)-acetamida



a. Acetato de (R)-2-(6-ciclopropil-5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo

Un matraz de fondo redondo se cargó con (R)-6-ciclopropil-2-(1-hidroxi-propan-2-il)-5-nitroisoquinolin-1(2H)-ona (30 mg, 0,0001 mol), anhídrido acético (0,015 ml, 0,00016 mol), piridina (0,015 ml, 0,00019 mol) y cloruro de metileno (4 ml, 0,06 mol) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Después el disolvente se retiró y el producto se llevó a la siguiente etapa sin purificación. EM m/z = 331,5 (M+H).

b. Acetato de (R)-2-(5-amino-6-ciclopropil-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo

Un matraz de fondo redondo se cargó con acetato de (R)-2-(6-ciclopropil-5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo (28 mg, 0,000085 mol), etanol (10 ml, 0,2 mol) y se añadió paladio, al 10 % en peso sobre carbón vegetal (1,0 mg, 0,000085 mol) y el matraz se evacuó de cualquier aire y se purgó con hidrógeno dos veces y la reacción se agitó a temperatura ambiente en atmósfera de hidrógeno (1 atm) durante 2 horas. La reacción se filtró sobre celite y el disolvente se retiró para obtener el producto. EM m/z = 301,2 (M+H).

c. Acetato de (R)-2-(6-ciclopropil-5-(2-(3-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)acetamido)-1-oxoisoquinolin-2(1H)-1l)propilo

Un vial de reacción se cargó con acetato de (R)-2-(5-amino-6-ciclopropil-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo (23,0 mg, 0,0000766 mol), ácido 2-(3-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)acético (26 mg, 0,00011 mol), hexafluorofosfato de *N,N,N',N'*-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio (73 mg, 0,00019 mol), *N,N*-diisopropiletilamina (33 μ l, 0,00019 mol) y cloruro de metileno (2 ml, 0,03 mol) y la reacción se agitó a 40 °C durante la noche. El disolvente se retiró y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (acetato de etilo al 0-70 %) para obtener el producto en forma de un sólido de color amarillo claro. EM m/z = 505,3 (M+H).

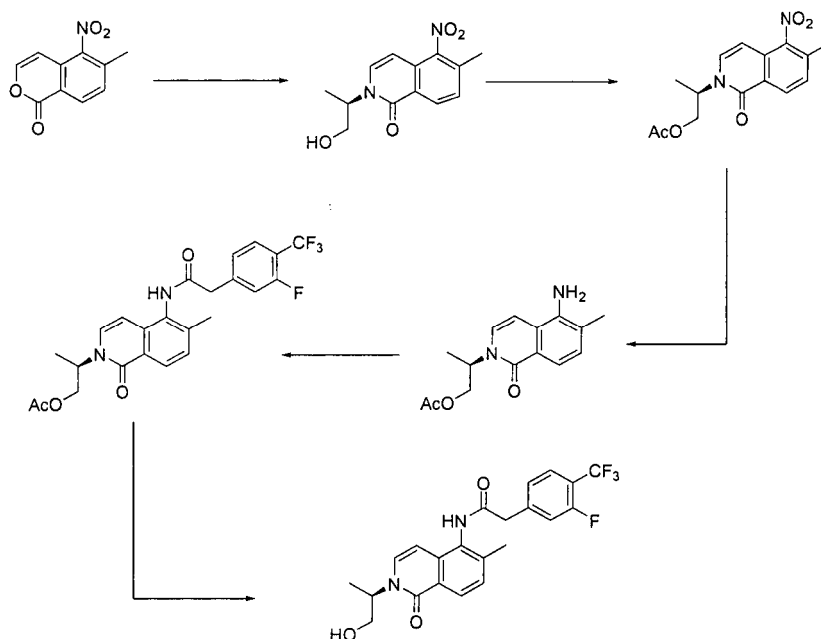
d. (R)-N-(6-Ciclopropil-2-(1-hidroxi-propan-2-il)-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-5-il)-2-(3-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)acetamida

Un matraz de fondo redondo se cargó con acetato de (R)-2-(6-ciclopropil-5-(2-(3-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)acetamido)-1-oxoisoquinolin-2(1H)-1l)propilo (23 mg, 0,000046 mol), carbonato de potasio (9,4 mg, 0,000068 mol) y metanol (2 ml, 0,05 mol) y 2 gotas de agua y la reacción se agitó durante 30 minutos. La mezcla de reacción se filtró sobre celite y el disolvente se retiró a presión reducida. El residuo se purificó mediante HPLC preparativa (fase inversa) para obtener el producto en forma de una masa pegajosa. EM m/z = 463,5 (M+H). RMN ¹H (400 MHz; acetona-d) δ 9,02 (s, 1H), 8,03 (d, *J* = 8,15 Hz, 1H), 7,61 (t, *J* = 7,52 Hz, 1H), 7,42 (d, *J* = 5,01 Hz, 1H), 7,39 (s, 1H), 7,24 (d, *J* = 7,52 Hz, 1H), 6,91 (d, *J* = 8,15 Hz, 1H), 6,36 (d, *J* = 8,15 Hz, 1H), 4,99-4,97 (m, 1H), 3,93 (s, 2H), 3,68-3,64 (m, 2H), 2,04-1,94 (m, 1H), 1,24 (d, *J* = 7,32 Hz, 3H), 0,81-0,77 (m, 2H), 0,60-0,56 (m, 2H).

30 **Procedimiento AF2**

(Compuesto 393)

N-[6-Metil-2-((R)-2-hidroxi-1-metil-etil)-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-2-(3-fluoro-4-trifluorometil-fenil)-acetamida



a. (R)-2-(1-Hidroxipropan-2-il)-6-metil-5-nitroisquinolin-1-(2H)-ona

5 Un matraz de fondo redondo se cargó con 6-metil-5-nitro-1H-isocromen-1-ona (260,00 mg, 0,0012673 mol), (2R)-2-aminopropan-1-ol (143 mg, 0,00190 mol), trietilamina (1,6 ml, 0,011 mol) y metanol (5 ml, 0,1 mol) y la reacción se calentó a 80 °C durante la noche. El disolvente se retiró y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida para obtener el producto en forma de un sólido de color amarillo claro, así como el acetal ciclado en forma de un sólido de color amarillo. Después, el acetal ciclado se recogió en metanol y se añadió trietilamina (2 ml) y se calentaron en el microondas durante 1 hora a 110 °C para obtener el producto ciclado. EM m/z = 263,4 (M+H).

b. Acetato de (R)-2-(6-metil-5-nitro-1-oxoisquinolin-2(1H)-il)propilo

10 Una mezcla de (R)-2-(1-hidroxipropan-2-il)-6-metil-5-nitroisquinolin-1(2H)-ona (100,0 mg, 0,0003813 mol), piridina (0,062 ml, 0,00076 mol), anhídrido acético (0,0432 ml, 0,000458 mol) y cloruro de metileno (5 ml, 0,08 mol) se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La reacción se completó y el disolvente se retiró a presión reducida y el producto resultante se secó al vacío (aceite de color amarillo) y se usó en la siguiente reacción sin ninguna purificación. EM m/z = 305,4 (M+H).

c. Acetato de (R)-2-(5-amino-6-metil-1-oxoisquinolin-2(1H)-il)propilo

15 Un matraz de fondo redondo se cargó con acetato de (R)-2-(6-metil-5-nitro-1-oxoisquinolin-2(1H)-il)propilo (110,0 mg, 0,0003615 mol), etanol (10 ml, 0,2 mol) y la reacción se calentó a 85 °C y se añadió cloruro de amonio (193,4 mg, 0,003615 mol) en agua (2 ml, 0,1 mol) seguido de hierro (80,7 mg, 0,00144 mol) en dos porciones y se continuó calentando durante 30 minutos. La reacción se completó y se vertió en DCM (50 ml) y se extrajo. La eliminación del disolvente a presión reducida proporcionó el producto puro en forma de un aceite. EM m/z = 275,4 (M+H).

d. Acetato de (R)-2-(5-(2-(3-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)acetamido)-6-metil-1-oxoisquinolin-2(1H)-il)propilo

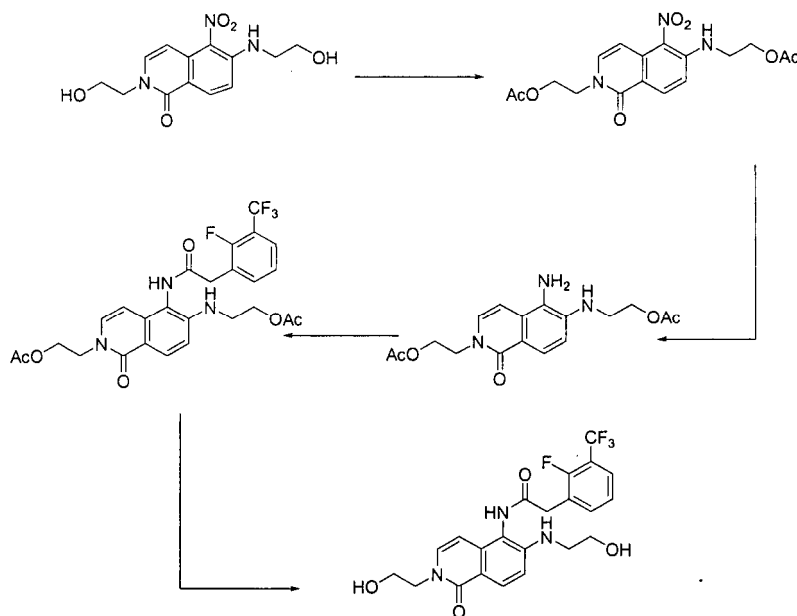
25 Un matraz de fondo redondo se cargó con acetato de (R)-2-(5-amino-6-metil-1-oxoisquinolin-2(1H)-il)propilo (175 mg, 0,000638 mol), ácido 2-(3-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)acético (210 mg, 0,00096 mol), hexafluorofosfato de *N,N,N',N'*-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio (610 mg, 0,0016 mol), *N,N*-diisopropiletilamina (0,28 ml, 0,0016 mol) y *N,N*-dimetilformamida (8 ml, 0,1 mol) y la reacción se agitó a 45 °C durante 24 horas. La reacción no se completó. Después, la reacción se inactivó con agua y se extrajo con acetato de etilo, se lavó con NaHCO₃, salmuera y se secó. El disolvente se retiró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida para obtener el producto en forma de un aceite de color amarillo claro. EM m/z = 479,3 (M+H)

e. (R)-2-(3-Fluoro-4-(trifluorometil)fenil)-N-(2-(1-hidroxipropan-2-il)-6-metil-1-oxo-1,2-dihidroisquinolin-5-il)acetamida

30 Un matraz de fondo redondo se cargó con acetato de (R)-2-(5-(2-(3-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)acetamido)-6-metil-1-oxoisquinolin-2(1H)-il)propilo (300,00 mg, 6,2704 E-4 mol), carbonato de potasio (260 mg, 0,0019 mol), metanol (20 ml, 0,4 mol) y 2 gotas de agua. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 20 minutos. El disolvente se retiró y la mezcla de reacción se extrajo con acetato de etilo y el disolvente se retiró para obtener el producto en forma de un sólido de color amarillo claro. EM m/z = 437,5 (M+H). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,91 (s, 1H), 8,07 (d, *J* = 8,45 Hz, 1H), 7,79 (t, *J* = 7,85 Hz, 1H), 7,53 (d, *J* = 12,68 Hz, 1H), 7,45 (d, *J* = 7,85 Hz, 2H), 7,37 (d, *J* = 8,45 Hz, 1H), 6,44 (d, *J* = 7,66 Hz, 1H), 5,05-5,00 (m, 1H), 4,93 (t, *J* = 5,66 Hz, 1H), 3,92 (s, 2H), 3,67-3,51 (m, 2H), 2,22 (s, 3H), 1,28 (d, *J* = 7,51 Hz, 3H).

Procedimiento AG

(Compuesto 385, no de la invención)

2-(2-Fluoro-3-trifluorometil-fenil)-N-[2-(2-hidroxi-etil)-6-(2-hidroxietilamino)-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-acetamida

5

a. Acetato de 2-(2-(2-acetoxietil)-5-nitro-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-6-ilamino)etilo

Un matraz de fondo redondo se cargó con 2-(2-hidroxi-etil)-6-(2-hidroxietilamino)-5-nitroisoquinolin-1(2H)-ona (300,0 mg, 0,0010 mol), anhídrido acético (0,24 ml, 0,0026 mol), piridina (0,33 ml, 0,0041 mol) y cloruro de metileno (10 ml, 0,2 mol) y la reacción se calentó a 45 °C durante la noche. La reacción se completó y el disolvente se retiró para obtener el producto, que se usó en la siguiente reacción sin purificación adicional. EM m/z = 378,2 (M+H).

10

b. Éster 2-[6-(2-acetoxi-etilamino)-5-amino-1-oxo-1H-isoquinolin-2-il]-etílico del ácido acético

Una mezcla de acetato de 2-(2-(2-acetoxietil)-5-nitro-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-6-ilamino)etilo (350 mg, 0,00093 mol), etanol (20 ml, 0,3 mol), cloruro de amonio (496,1 mg, 0,009275 mol) y agua (10 ml, 0,6 mol) se añadió a 85 °C. Se añadió hierro (207 mg, 0,00371 mol) en dos porciones separadas por cinco minutos y la reacción se agitó a esa temperatura durante 1 hora. Después, la mezcla de reacción se vertió en cloruro de metileno (100 ml) y las fases se separaron y la fase orgánica se lavó con salmuera y se secó sobre sulfato de sodio. El disolvente se retiró a presión reducida y se usó para la siguiente reacción sin purificación. EM m/z = 348,5 (M+H).

15

c. Acetato de 2-(2-(2-acetoxietil)-5-(2-(2-fluoro-3-(trifluorometil)fenil)acetamido)-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-6-ilamino)etilo

Un vial de reacción se cargó con éster 2-[6-(2-acetoxi-etilamino)-5-amino-1-oxo-1H-isoquinolin-2-il]-etílico del ácido acético (100,00 mg, 0,00028788 mol), ácido 2-(2-fluoro-3-(trifluorometil)fenil)acético (76,74 mg, 0,0003454 mol), hexafluorofosfato de *N,N,N',N'*-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio (274 mg, 0,000720 mol), *N,N*-diisopropiletilamina (0,125 ml, 0,000720 mol) y cloruro de metileno (3 ml, 0,05 mol) y la reacción se calentó a 40 °C durante 5 h. El disolvente se retiró y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida para obtener el producto en forma de un sólido de color blanquecino. EM m/z = 552,3 (M+H).

20

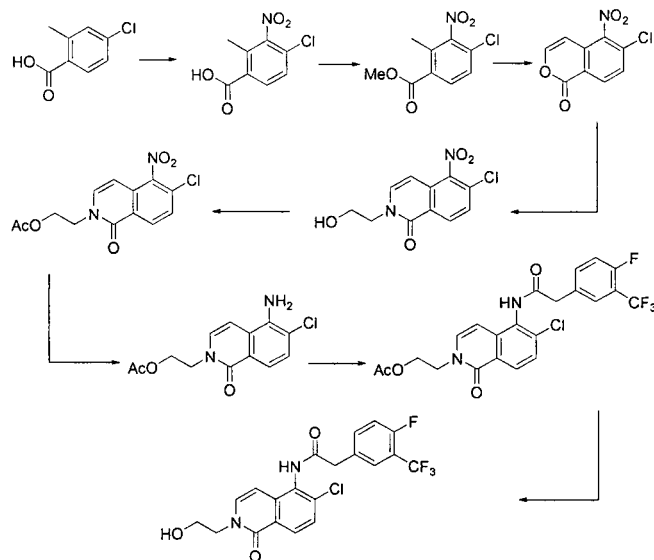
c. 2-(2-Fluoro-3-(trifluorometil)fenil)-N-(2-(2-hidroxi-etil)-6-(2-hidroxietilamino)-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-5-il)acetamida

Un matraz de fondo redondo se cargó con acetato de 2-(2-(2-acetoxietil)-5-(2-(2-fluoro-3-(trifluorometil)fenil)acetamido)-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-6-ilamino)etilo (120 mg, 0,00022 mol), carbonato de potasio (45 mg, 0,00033 mol) y metanol (3 ml, 0,07 mol) y se añadieron 2 gotas de agua y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos y se filtró sobre sulfato de sodio y el disolvente se retiró y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida para obtener el producto en forma de un sólido de color blanco. EM m/z = 468,4 (M+H). RMN1H (400 MHz) δ 9,45 (s, 1H), 7,98 (d, *J* = 8,95 Hz, 1H), 7,79 (t, *J* = 7,45 Hz, 1H), 7,70 (t, *J* = 7,09 Hz, 1H), 7,40 (t, *J* = 7,83 Hz, 1H), 7,22 (d, *J* = 7,83 Hz, 1H), 6,91 (d, *J* = 9,08 Hz, 1H), 6,16 (d, *J* = 7,73 Hz, 1H), 5,64 (t, *J* = 5,72 Hz, 1H), 4,84 (t, *J* = 5,33 Hz, 1H), 4,76 (t, *J* = 5,48 Hz, 1H), 3,96 (s, 2H), 3,91 (t, *J* = 5,27 Hz, 2H), 3,62-3,53 (m, 4H), 3,27 (c, *J* = 6,15 Hz, 2H).

35

Procedimiento AH

(Compuesto 386)

N-[6-Cloro-2-(2-hidroxi-etil)-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-2-(4-fluoro-3-trifluorometil-fenil)-acetamida5 **a. Ácido 4-cloro-2-metil-3-nitrobenzoico**

Un matraz de fondo redondo se cargó con ácido 4-cloro-2-metilbenzoico (200 mg, 0,001 mol) y ácido sulfúrico (1 ml, 0,02 mol) y se añadió ácido nítrico fumante (0,05 ml, 0,001 mol) a -20 °C y la reacción se agitó durante 1 hora a 70 °C y se vertió en agua enfriada con hielo en el que la mezcla de compuestos 2- y 4-nitro se separaron por precipitación. El precipitado se filtró y se disolvió en acetato de etilo (30 ml) y se lavó con solución de bicarbonato de sodio acuosa saturada, salmuera y se secó sobre sulfato de sodio. El disolvente se redujo en un ¼ de volumen y el isómero no deseado se separó por precipitación. El precipitado se filtró y el filtrado se secó para obtener una mezcla 1:1 de isómeros en forma de un sólido de color blanco. EM m/z = 214,5 (M-H).

10 **b. 4-Cloro-2-metil-3-nitrobenzoato de metilo**

Un matraz de fondo redondo se cargó con ácido 4-cloro-2-metil-3-nitrobenzoico (11,00 g, 0,05102 mol) y metanol (110 ml, 2,7 mol) y se añadió cloruro de tionilo (4,5 ml, 0,061 mol) a 0 °C y la reacción se calentó a 75 °C durante 3 horas. El disolvente se retiró a presión reducida y el residuo se disolvió en acetato de etilo (300 ml) y se lavó con bicarbonato de sodio acuoso, agua y salmuera. Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre sulfato de sodio y el disolvente se retiró para obtener los ésteres. EM m/z = 230,3 (M+H).

15 **c. 6-Cloro-5-nitro-1 H-isocromen-1-ona**

Un tubo de presión se cargó con 4-cloro-2-metil-3-nitrobenzoato de metilo (13 g, 57°mmol) en *N,N*-dimetilformamida (10 ml, 200°mmol), se añadió 1,1-dimetoxi-*N,N*-dimetilmetanamina (26,5 ml, 200°mmol) y la reacción se calentó a 120 °C durante 20 h. Los disolventes se retiraron y el residuo de color pardo resultante se redisolvió en acetato de etilo (600 ml, 6,000°mmol) y se añadió gel de sílice 60A de retícula de 130-270 (500 g, 6,000°mmol) y la reacción se agitó con un agitador mecánico durante 8 h. El gel de sílice se retiró por filtración, se lavó con acetato de etilo (400 ml) y los extractos orgánicos se retiraron al vacío y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (330 g de gel de sílice, acetato de etilo al 2-50 %/hexano) para obtener los dos isómeros en rendimientos del 14 % cada uno con una pureza de casi el 98 %. EM m/z = 226,2 (M+H). ¹H RMN (400 MHz; DMSO) δ 8,35 (d, *J* = 8,63 Hz, 1H), 7,95 (d, *J* = 8,63 Hz, 1H), 7,76 (d, *J* = 5,91 Hz, 1H), 6,61 (d, *J* = 6,04 Hz, 1H).

20 **d. 6-Cloro-2-(2-hidroxi-etil)-5-nitroisocquinolin-1(2H)-ona**

Un vial para microondas se cargó con 6-cloro-5-nitro-1H-isocromen-1-ona (1,0 g, 0,00443 mol), etanolamina (0,401 ml, 0,00665 mol), trietilamina (1,24 ml, 0,00886 mol) y metanol (30 ml, 0,7 mol) y la reacción se sometió a microondas a 100 °C durante 1 hora. La reacción se completó en el sentido de que todo el material de partida se consumió, pero el producto formado principal era el desplazamiento del cloro con la amina. El disolvente se retiró y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida para obtener el producto en forma de un sólido de color amarillo. EM m/z = 269,4 (M+H). RMN ¹H (400 MHz; CDCl₃) δ 8,41 (d, *J* = 8,56 Hz, 1H), 7,52 (d, *J* = 8,56 Hz, 1H), 7,33 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 6,31 (d, *J* = 8,56 Hz, 1H), 4,17 (t, *J* = 44,88 Hz, 2H), 3,99 (t, *J* = 5,11 Hz, 2H), 2,55 (s a, 1H).

e. Acetato de 2-(6-cloro-5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)acetato

Un matraz de fondo redondo se cargó con 6-cloro-2-(2-hidroxietil)-5-nitroisoquinolin-1(2H)-ona (400,0 mg, 0,00149 mol), anhídrido acético (0,21 ml, 0,0022 mol), piridina (0,18 ml, 0,0022 mol) y cloruro de metileno (20 ml, 0,2 mol) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El disolvente se retiró para obtener el producto en forma de un sólido de color amarillo. EM m/z = 311,3 (M+H).

f. Acetato de 2-(5-amino-6-cloro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)etilo

Un matraz de fondo redondo se cargó con acetato de 2-(6-cloro-5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)etilo (450,00 mg, 0,0014484 mol), etanol (20 ml, 0,3 mol) y se añadió cloruro de amonio (774,8 mg, 0,01448 mol) en agua (10 ml, 0,6 mol) a 85 °C seguido de hierro (324 mg, 0,00579 mol) en dos porciones. La reacción se agitó a esa temperatura durante 45 minutos y después se vertió en cloruro de metileno (200 ml) y se extrajo. El disolvente se retiró para proporcionar el producto puro en forma de un sólido de color amarillo claro. EM m/z = 281,3 (M+H).

g. Acetato de 2-(6-cloro-5-(2-(4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil)acetamido)-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)etilo

Un vial de reacción se cargó con acetato de 2-(5-amino-6-cloro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)etilo (60,0 mg, 0,000214 mol), ácido 2-(4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil)acético (57,0 mg, 0,000256 mol), hexafluorofosfato de *N,N,N',N'*-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio (203 mg, 0,000534 mol), *N,N*-diisopropiletilamina (0,093 ml, 0,00053 mol) y cloruro de metileno (3 ml, 0,05 mol) y la reacción se agitó a 45 °C durante 4 días. La reacción no se completó y un producto secundario polar comenzó a aumentar y por tanto la reacción se detuvo y el disolvente se retiró y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida para obtener el producto en forma de un sólido de color amarillo claro. EM m/z = 485,2 (M+H).

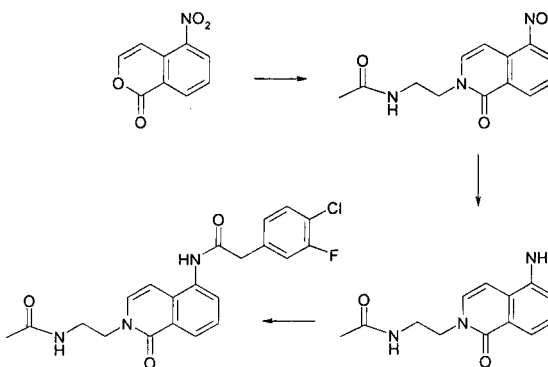
h. N-(6-Cloro-2-(2-hidroxietil)-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-5-il)-2-(4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil)acetamida

Un matraz de fondo redondo se cargó con acetato de 2-(6-cloro-5-(2-(4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil)acetamido)-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)etilo (80,0 mg, 0,000165 mol), carbonato de potasio (34,2 mg, 0,000248 mol), metanol y 2 gotas de agua y la reacción se agitó durante 20 minutos a temperatura ambiente. Después, la reacción se filtró sobre sulfato de sodio y de celite y se lavó con metanol. El disolvente se retiró y el residuo se purificó mediante HPLC preparativa (fase inversa) para obtener el producto en forma de un sólido de color amarillo pálido. EM m/z = 443,3 (M+H) RMN ¹H (400 MHz; DMSO-d₆) δ 10,18 (s, 1H), 8,15 (d, *J* = 8,81 Hz, 1H), 7,82 (d, *J* = 6,7 Hz, 1H), 7,77-7,74 (m, 1H), 7,59 (d, *J* = 8,81 Hz, 1H), 7,52 (t, *J* = 9,52 Hz, 1H), 7,46 (d, *J* = 7,40 Hz, 1H), 6,40 (d, *J* = 7,59 Hz, 1H), 4,88 (t, *J* = 5,0 Hz, 1H), 4,00 (t, *J* = 5,55 Hz, 2H), 3,89 (s, 2H), 3,65 (c, *J* = 5,55 Hz, 2H).

Procedimiento AJ

(Compuesto 388, no de la invención)

N-[2-(2-Acetilamino-etil)-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-2-(4-cloro-3-fluoro-fenil)-acetamida



a. N-(2-(5-Nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)etil)acetamida

En un matraz de fondo redondo se combinaron 5-nitro-isocromen-1-ona (5,00 g, 0,0235 mol), N-Acetil-etilendiamina (7,21 g, 0,0706 mol) y metanol (150 ml, 3,7 mol). La mezcla se calentó a reflujo durante 1,5 horas, la mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La CL-EM mostró que el material de partida se había consumido completamente. Los volátiles se retiraron y el aceite resultante se purificó en un gradiente de metanol:cloruro de metileno (0-10 %). Las fracciones que contenían el producto deseado, tal como se determinó mediante TLC y CL-EM, se combinaron y se concentraron para producir un sólido de color amarillo.

40

b. N-(2-(5-Amino-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)etil)acetamida

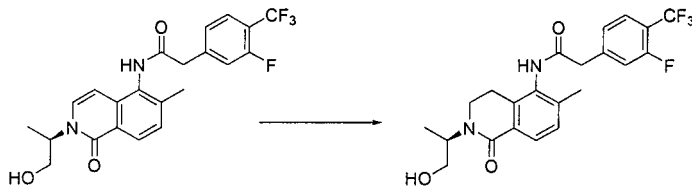
En un matraz de fondo redondo se combinaron N-(2-(5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)etil)acetamida (3,27 g, 0,0119 mol), paladio sobre C (1,6 g, 0,015 mol) y etanol (250 ml, 4,2 mol). La mezcla de reacción se agitó en atmósfera de hidrógeno a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se filtró sobre celite, los volátiles se retiraron al vacío produciendo el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo. El compuesto se llevó a la siguiente etapa sin purificación adicional.

c. N-(2-(2-Acetamidoetil)-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-5-il)-(4-cloro-3-fluorofenil)acetamida

En un vial de reacción de 20 ml se combinaron N-(2-(5-amino-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)etil)acetamida (20 mg, 0,00008 mol), ácido 2-(4-cloro-3-fluorofenil)acético (30,55 mg, 0,0001620 mol), hexafluorofosfato de *N,N,N',N'*-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio (72,66 mg, 0,0001911 mol), *N,N*-diisopropiletilamina (61,6 µl, 0,000353 mol) y *N,N*-dimetilformamida (1 ml, 0,02 mol). La mezcla se calentó a 50 °C durante dos horas, se dejó enfriar y se vertió en bicarbonato de sodio sat (200 ml). La mezcla se extrajo con cloruro de metileno (100 ml, 3 veces). Los extractos combinados se secaron sobre sulfato de sodio y se redujeron al vacío. La mezcla se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa usando un gradiente de acetonitrilo:agua a pH 10. Las fracciones puras combinadas se redujeron al vacío para proporcionar el compuesto en forma de un sólido de color blanquecino. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10,06 (s, 1H), 8,07 (d, 1H, *J* = 8,01 Hz), 7,96 (t, 1H, *J* = 5,89 Hz), 7,83 (dd, 1H, *J* = 7,84 Hz), 7,56 (t, 1H, *J* = 8,13 Hz), 7,47-7,41 (m, 2H), 7,36 (d, 1H, *J* = 7,66 Hz), 7,24 (dd, 1H, *J* = 8,37 Hz), 6,36 (d, 1H, *J* = 7,63 Hz), 3,98 (t, 2H, *J* = 5,93 Hz), 3,82 (s, 2H), 3,39-3,35 (m, 2H), 1,75 (s, 3H).

Procedimiento AK

(Compuesto 401, no de la invención)

N-[6-Metil-2-((R)-2-hidroxi-1-metil-etil)-1-oxo-1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolin-5-il]-2-(3-fluoro-4-trifluorometil-fenil)acetamidaa. (R)-2-(3-Fluoro-4-(trifluorometil)fenil)-N-(2-(1-hidroxiopropan-2-il)-6-metil-1-oxo-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-5-il)acetamida

Un matraz de fondo redondo se cargó con (R)-2-(3-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)-N-(2-(1-hidroxiopropan-2-il)-6-metil-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-5-il)acetamida (50,0 mg, 0,000114 mol), etanol (6 ml, 0,1 mol) y se agregó paladio, al 10 % en peso sobre carbón vegetal (1,4 mg, 0,000011 mol) y el matraz se evacuó y se purgó con hidrógeno. La evacuación y el purgado se repitieron dos veces y la reacción se agitó en una atmósfera de hidrógeno (globo) durante la noche. La mezcla de reacción se filtró sobre celite y el disolvente se retiró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida para obtener el producto en forma de un sólido de color blanco. EM *m/z* = 439,5 (M+H). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ 9,70 (s, 1H), 7,78 (t, *J* = 7,75 Hz, 1H), 7,71 (d, *J* = 8,00 Hz, 1H), 7,49 (d, *J* = 12,25 Hz, 1H), 7,41 (d, *J* = 8,50 Hz, 1H), 7,22 (d, *J* = 8,25 Hz, 1H), 4,73 (t, *J* = 5,73 Hz, 1H), 4,69-4,63 (m, 1H), 3,85 (s, 2H), 3,48-3,38 (m, 2H), 2,73-2,61 (m, 2H), 2,17 (s, 3H), 2,02-1,98 (m, 1H), 1,42-1,39 (m, 1H), 1,06 (d, *J* = 6,90 Hz, 3H).

Ejemplo 1

El receptor P2X₇ se expresa fuertemente en estirpes celulares derivadas de macrófagos, incluyendo, pero no limitadas a, J774 (estirpe de macrófagos de ratón, American Type Culture Collection (ATCC), Rockville, MD, ATCC TIB-67), P388 (estirpe celular de ratón, ATCC CCL-46), P815 (estirpe derivada de mastocitoma de los mastocitos de ratón, ATCC TIB-64), THP-1 (estirpe celular derivada de monocitos humanos, ATCC TIB202) y U937 (estirpe celular humana derivada de linfoma histiocítico, inducible a diferenciación monocítica, ATCC CRL-1593.2) y en cultivos de macrófagos aislados. Los macrófagos animales humanos o no humanos se aíslan usando el procedimiento que se señala a continuación.

El receptor P2Z/P2X₇ puede caracterizarse mediante la medición de la apertura del canal, por ejemplo el flujo de iones, y/o mediante la evaluación de la formación de poros, incluyendo mediante el control de la absorción de colorante o de la lisis celular en células que expresan de forma natural este receptor. Los compuestos tales como ATP, 2' y 3'-(O)-(4-benzoil benzoil) ATP (BzATP) efectúan la formación de poros en la membrana plasmática de estas células, en particular a concentraciones bajas de iones divalentes extracelulares (Buisman y col., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:7988 (1988); Zambon y col., *Cell Immunol* 156:458 (1994); Hickman y col. *Blood* 84:2452 (1994)). Pueden verse colorantes de gran tamaño molecular, incluyendo el colorante de propidio YO-PRO-1, entrando en

estirpes celulares derivadas de macrófagos durante el registro de células (Hickman y col., *Blood* 84:2452 (1994); Wiley y col., *Br. J. Pharmacol.* 112:946 (1994); Steinberg y col., *J. Biol. Chem.* 262:8884 (1987)). También puede controlarse el bromuro de etidio (una sonda de ADN fluorescente), donde se observa un aumento en la fluorescencia del bromuro de etidio unido al ADN intracelular. La expresión de rP2X₇ recombinante de rata o humano en células, incluyendo las células HEK293, y en oocitos de *Xenopus* demuestra el flujo de entrada y la formación de poros mediante el registro de células enteras y de la fluorescencia YO-PRO-1 (Suprenant y col., *Science* 272:735 (1996); Rassendren y col., *J. Biol. Chem.* 272:5482 (1997)).

Los compuestos de la invención puede ensayarse para determinar la actividad antagonista en el receptor P2X₇. Los ensayos que se realizan incluyen y se seleccionan entre: (i) experimentos electrofisiológicos; (ii) fluorescencia YO-Pro1; (iii) fluorescencia de bromuro de etidio y (iv) liberación de IL-1 β desde macrófagos estimulados, incluyendo como se describe a continuación. Los compuestos pueden ensayarse *in vivo* en modelos animales, incluyendo los modelos de inflamación (por ejemplo, el modelo de edema de la pata, la artritis inducida por colágeno, el modelo de EAE de EM).

Aislamiento de macrófagos humanos

Se prepararon cultivos de macrófagos animales humanos o no humanos derivados de monocitos como se describe por Blanchard y col. (Blanchard y col., *J. Cell. Biochem.* 57:452 (1995); Blanchard y col., *J. Immunol.* 147:2579 (1991)). Brevemente, los monocitos se aislaron a partir de concentrados de leucocitos obtenidos a partir de un voluntario sano. Los leucocitos se suspendieron en medio RPMI 1460 (Life Technologies, Inc.) con suero al 20 % (humano para las células humanas), glutamina 2^omM, HEPES 5^omM y estreptomycin 100 mg/ml. Las células se dejaron adherir a frascos de cultivo durante 1-2 h, después de lo cual las células no adherentes se retiraron por lavado. Las células adherentes se cultivaron durante 7-14 d en este medio más interferón- γ (humano para las células humanas) (1.000 unidades/ml). Los macrófagos se recuperaron del frasco de cultivo mediante el pipeteo con solución salina tamponada con fosfato y se sembraron sobre cubreobjetos de vidrio para experimentos electrofisiológicos u otros realizados 12-24 h más adelante.

Ejemplo 2

Experimentos electrofisiológicos

Los registros de células enteras se hicieron usando el amplificador de pinzamiento zonal EPC9 y los programas de obtención Pulse (HEKA, Lambrecht, Alemania). Los registros de células enteras se obtuvieron a partir de células, por ejemplo células J774A.1 (American Type Culture Collection, Rockville, MD, ATCC TIB-67); se aplicaron agonistas durante periodos de 1 a 3 s mediante un sistema de entrega de tubo en U de flujo rápido [EM Fenwick, A. Marty, E. Neher, *J. Physiol.* (Londres) 331, 577 (1982)]. La solución interna de la pipeta era aspartato de cesio o aspartato de potasio 140^omM, NaCl 20^omM, EGTA 10^omM y HEPES 5^omM; la solución externa normal era NaCl 145^omM, KCl 2^omM, CaCl₂ 2^omM, MgCl₂ 1^omM, Hepes 10 mM y glucosa 12^omM. La solución externa divalente baja estaba nominalmente libre de magnesio con CaCl₂ 0,3^omM. Las curvas de concentración-respuesta se construyeron en solución divalente baja mediante el registro de las corrientes en respuesta a las aplicaciones de 1 s de agonista en intervalos de 8 min con solución normal externa presente durante 6 min antes de cada aplicación. Este protocolo es necesario para prevenir el desarrollo de corrientes hacia el interior sostenidas.

Los potenciales de inversión (E_{inv}) se obtuvieron mediante la aplicación de ATP (300 μ M) o BzATP (30 μ M) (controles) o el compuesto que se ensayaba, mientras que la membrana se mantuvo a diferentes potenciales o mediante la aplicación de rampas de tensión desde -120 a 30 o 50 mV. Las razones de permeabilidad se calcularon a partir de E_{inv} calculando primero α ($= P_{Na}/P_K$, donde P es la permeabilidad) para las concentraciones internas (i) y externas (o) $[Na]_i = 20^o$ mM, $[Na]_o = 145^o$ mM, $[K]_o = 0^o$ mM y $[K]_i = 140^o$ mM, a partir de $\alpha = ([145/exp(E_{inv}F/RT)] - 20)/140$ (donde F es la constante de Faraday, R es la constante de los gases y T es la temperatura absoluta). Otros valores P_X/P_{Na} , cuando $[X]_o = 145^o$ mM, $[Na]_i = 20^o$ mM, $[K]_i = 140^o$ mM y $[Na]_o = [K]_o = [X]_i = 0^o$ mM, se calcularon a partir de $P_X/P_{Na} = [(exp E_{inv}F/RT)] (20 + 140\alpha)/145$. En orden de tamaño, X era cesio, metilamina, tris(hidroximetil)aminometano, tetraetilamonio y N-metil-D-glucamina. La solución interna también contenía EGTA 10^omM y HEPES 5^omM. Las soluciones externas también contenían glucosa 10^omM y concentraciones normales o bajas de cationes divalentes; el pH se mantuvo a 7,3 con HCl, histidina o Hepes según fue necesario y la osmolaridad de todas las soluciones era de 295 a 315.

Ejemplo 3

Fluorescencia YO-PRO1

Se usó el sistema Photonics Imaging (IDEA) para medidas de fluorescencia microscópica (Photonics, Planegg, Alemania). Los cubreobjetos se colocaron en la platina de un microscopio invertido Zeiss Axiovert 100 o equivalente y se vieron con aceite de inmersión con un objetivo de Fluor 40X. Se añadió YO-PRO-1 (10 μ M; Molecular Probes, Eugene, OR) al fluido de superfusión durante los registros electrofisiológicos de 3 a 6 minutos antes de cambiar a una solución divalente baja y se lavaron al cambiar de nuevo a la solución divalente normal, después de lo cual la fluorescencia lámpara se encendió y las células se examinan con un filtro de isotiocianato de fluoresceína. La fluorescencia YO-PRO1 se midió usando longitudes de onda de excitación/emisión de 491/509 nm. Las imágenes se

5 obtuvieron a intervalos de 5-20s durante la superfusión continua (2 ml/min) con YO-PRO1 y concentraciones variables de ATP de control, BzATP o el compuesto que se ensayaba. Para cada experimento, se obtuvo el curso temporal de la fluorescencia YO-PRO1 para 10-20 células individuales y después se promedió para obtener la señal de fluorescencia media. Los resultados se expresaron como la media de la señal en 3 min para rP2X₇, y la señal en 10 min se usó para P2X₇ y células de macrófagos humanos. Todos los experimentos se realizaron a temperatura ambiente.

Ejemplo 4

Bromuro de etidio

10 Los compuestos de la invención se ensayaron para determinar la actividad antagonista en el receptor P2X₇ mediante el control del bromuro de etidio que entró en células que expresan el receptor P2X₇ en la formación de poros. El ensayo se realizó en placas de microtitulación de fondo plano de 96 pocillos, los pocillos se llenaron con 250 µl de solución de ensayo que comprendía 200 µl de una suspensión de células que expresan P2X₇ (por ejemplo, células THP-1, células J774, etc) ($2,5 \times 10^6$ células/ml) que contenía bromuro de etidio 10^{-4} M, 25 µl de una solución tampón de alto contenido de potasio que contenía BzATP 10^{-5} M y 25 µl de una solución tampón de alto contenido de potasio que contenía compuesto de ensayo. La placa se cubrió con una lámina de plástico y se incubó a 37 °C durante una hora. Después, la placa se leyó en un lector de placas fluorescente Perkin-Elmer, excitación 520 nm, emisión 595 nm, anchos de rendija: Ex 15 nm, EM 20 nm. Con fines comparativos, se usaron BzATP (un agonista del receptor P2X₇) y piridoxal 5-fosfato (un agonista del receptor P2X₇) por separado en el ensayo como controles. A partir de las lecturas obtenidas, se calculó una cifra de CI₅₀ para cada compuesto de ensayo. Esta cifra es el logaritmo negativo de la concentración de compuesto de ensayo necesaria para reducir la actividad agonista de BzATP en un 50 %.

Ejemplo 5

Liberación de IL-1β

25 Este ejemplo demuestra el ensayo de los compuestos de la presente invención para determinar su eficacia como inhibidores de la liberación de IL-1β mediada por P2X₇ desde los macrófagos humanos activados por el péptido beta amiloide de Alzheimer 1-42.

Aislamiento de las células

30 Los monocitos se aislaron a partir de células mononucleares de sangre periférica (PBMC, del inglés *peripheral blood mononuclear cells*) de la siguiente manera. La sangre completa se puso en capas directamente sobre columnas Histopak 1077-1 (Sigma Biochemicals) y se centrifugó a 800 xg durante 15 minutos. La banda PBMC de las células se retiró a un nuevo tubo de cultivo de 50 ml y se diluyó 1:1 con tampón de lavado (tampón fosfato salino, pH 7,4 que contenía EDTA 2 mM y BSA 5 mg/ml), seguido de centrifugación a 800 xg durante 5 minutos. Después, las células se lavaron por resuspensión secuencial del sedimento celular en tampón de lavado y centrifugación a 600 xg durante 5 minutos. El procedimiento de lavado se repitió hasta que el sobrenadante estuvo limpio de plaquetas contaminantes (en general, de 5 a 6 lavados). Los monocitos se purificaron después a partir de las PBMC por selección negativa utilizando un kit de aislamiento de monocitos (Miltenyi Biotec, Inc.) que contenía anticuerpos frente a las células no monocíticas, desarrollando las células a través de una columna magnética para eliminar las células unidas al anticuerpo y recoger el volumen de monocitos de flujo continuo. Los monocitos se lavaron una vez con tampón de lavado y se sembraron a 100.000 células por pocillo en 100 µl de RPMI 1640 sin suero en placas de 96 pocillos y se incubaron durante 1 hora a 37 °C en una incubadora de cultivo tisular humidificada con CO₂ al 5 %/95 %. Después de 1 hora, el medio se reemplazó por 100 µl de medio de cultivo completo (RPMI 1640, suero de tipo AB humano al 10 % (inactivado por calor), HEPES 25 mM, glutamina 2 mM, 50 U/ml cada uno de penicilina y estreptomina) y se incubó durante la noche (16 horas).

Pauta de dosificación

45 El día siguiente, el medio de cultivo se reemplazó 100 µl de medio de cultivo completo fresco en ausencia o presencia de péptido beta amiloide humano 1-42 (5 µM) y se incubó a 37 °C en una incubadora de cultivo tisular humidificada con CO₂ al 5 %/95 % durante 5 horas. Después, se retiró el medio y se desechó. Cada pocillo se lavó una vez con solución salina tamponada de Hanks (HBSS) que contenía CaCl₂ 1 mM seguido de la adición de 80 µl de HBSS/CaCl₂-compuesto inhibidor de la presente invención (solución madre 10x en HBSS/CaCl₂ para una concentración final de 23 nM y 206 nM) y se incubó 15 minutos en la incubadora de cultivo tisular, seguido de la adición de 10 µl de HBSS/CaCl₂ o 10 µl de benzoil ATP (BzATP; solución madre 3 mM en HBSS/CaCl₂ para una concentración final de 300 µM) y se incubó durante otros 30 minutos en la incubadora de cultivo tisular. Después, el medio se retiró a nuevas placas de 96 pocillos para su almacenamiento a -70 °C hasta que se cuantificó el contenido de IL-1β mediante ELISA (de R & D Systems). Las células se lavaron una vez con HBSS/CaCl₂ seguido por la lisis de las células con 100 µl tampón de lisis enfriado con hielo (Tris 100 mM, pH 7,6, Triton X-100 al 1 % y 1 comprimido por 30 ml de inhibidor de proteasas Complete TM de Roche Biochemicals, Inc). Los lisados celulares se almacenaron a -70 °C hasta que la IL-1 β se cuantificó mediante ELISA.

Ejemplo 6

Modelos animales *in vivo*

5 **A. Este ejemplo ilustra la eficacia de los compuestos de la presente invención en el tratamiento de la esclerosis múltiple. Como se describe en el presente documento, el modelo de encefalomiélitis autoinmune experimental (EAE) se usa para mostrar dicha eficacia. Los siguientes procedimientos se emplean en este modelo.**

Animales

Se obtuvieron ratones SJL/J hembras, de 8 semanas de edad, de los Laboratorios Jackson.

Antígenos

10 Se obtuvo proteína proteolipídica de mielina (PLP 139-151) (HSLGKWLGHDPKF) (N.º H-2478 del catálogo) de Bachem, Bioscience, Inc., 3700 Horizon Dr., King of Prussia, Pa. 19406, 1-610-239-0300 (teléfono), 1-610-239-0800 (fax).

Se obtuvo adyuvante completo de Freund H37 Ra [*Mycobacterium tuberculosis* H37 Ra 1 mg/ml] de Difco 1-800-521-0851 (N.º 3114-60-5 del catálogo, 6 × 10 ml).

15 También se obtuvo *Mycobacterium Tuberculosis* de Difco, 1-800-521-0851 (N.º 3114-33-8 del catálogo, 6 veces. 100 mg).

Toxina pertúsica

Se obtuvo *Bordetella Pertussis*, (polvo liofilizado que contenía PBS y lactosa) de List Biological Laboratories, 1-408-866-6363 (N.º de Producto 180, 50 ug).

Inducción de EAE en ratones

20 Se disolvió PLP139-151 péptido en solución de H₂O:PBS (1:1) a una concentración de 7,5 mg/10 ml (para 75 µg de PLP por grupo) y se emulsionó con un volumen igual de CFA suplementado con 40 mg/10 ml de *Mycobacterium tuberculosis* H37Ra muerto por calor. Los ratones fueron inyectados por vía subcutánea con 0,2 ml de emulsión de péptidos en el flanco abdominal (0,1 ml en cada lado). En el mismo día y 72 horas más tarde, los ratones fueron inyectados por vía intravenosa con el 100 % de 35 ng y 50 ng de toxina de *Bordetella Pertussis* en suero salino respectivamente.

Evaluación Clínica

30 ETAPA 0: Normal
 ETAPA 0,5: Cola con cojera parcial
 ETAPA 1: Cola con cojera completa
 ETAPA 2: Deterioro de reflejo de enderezamiento
 ETAPA 2,5: El reflejo de enderezamiento está retrasado (No es lo suficientemente débil como para ser la etapa 3).
 ETAPA 3: Parálisis parcial de la extremidad posterior
 ETAPA 3,5: Una pierna está completamente paralizada y una pierna está parcialmente paralizada,
 35 ETAPA 4: Parálisis completa de la extremidad posterior
 ETAPA 4,5: Las piernas están completamente paralizadas y ratas moribundas
 ETAPA 5: Muerte debido a EAE

Cursos clínicos de la EAE

40 Fase aguda: primer episodio clínico (Día 10-18)
 Remisión: fase de mejoría clínica después de un episodio clínico; caracterizado por una reducción (> = un grado) en la puntuación clínica durante al menos dos días después de la puntuación máxima de la fase aguda o una recaída de la enfermedad.

Recaída: Incremento de al menos un grado en la puntuación clínica durante al menos dos días después de que se ha alcanzado la remisión.

45 Se espera que los animales tratados con los compuestos de la presente invención generalmente muestren mejorías en las puntuaciones clínicas.

B. Este ejemplo ilustra un protocolo para determinar la eficacia de los compuestos de la presente invención para el tratamiento del ictus usando un modelo animal.

50 A ratas Sprague Dawley machos (Charles River) que pesaban 280-320 g se les dio acceso libre a comida y agua y se aclimataron durante un mínimo de 4 días antes de su uso en los experimentos. Todas las ratas para su uso en los

estudios ayunaron comenzando a las 3:00 pm el día antes de la cirugía, pero con acceso libre al agua. Antes de la cirugía se pesó cada rata. La rata se indujo inicialmente con isoflurano al 5 % (Aerrane, Fort Dodge), en combinación con O₂ al 30 %, N₂O al 70 % durante 2-5 minutos. Después, la rata se colocó sobre una almohadilla de calentamiento de agua de circulación y en un cono para la nariz para la respiración espontánea de los gases anestésicos. El isoflurano se redujo al 2 %. Se insertó una sonda rectal y la temperatura corporal se mantuvo a 36,5-37,5 °C. El pelo se recortó en todos los sitios quirúrgicos y estas regiones entonces se limpiaron con Betadine.

Procedimiento quirúrgico

Se colocó una sonda de músculo temporal en el músculo temporal derecho y se controló la "temperatura del cerebro". Se hizo una incisión en la línea media del cuello en la parte superior del tórax de la rata. Se hizo una disección cuidadosa, aislamiento y retracción de los músculos sternomastoideo, digástrico y esternohioideo para exponer las arterias carótidas comunes, internas y externas adecuadas. La arteria carótida común derecha se aisló con una sutura de seda 5-0. Durante la cirugía la sutura se liberó permitiendo la reperfusión cada 2-4 minutos. Las arterias carótida externa derecha y tiroidea superior también se aislaron y la tiroidea superior se cauterizó, mientras que la carótida externa se ligó de manera distal con una sutura de seda 5-0. Otra sutura de seda 5-0 se ató floja alrededor de la arteria carótida externa. Se aisló la arteria occipital, se ligó y se cortó. La carótida interna se aisló.

Con las arterias carótidas comunes y externos inmovilizadas, se colocó un clip de aneurisma en la arteria carótida interna. Se hizo una pequeña incisión en el extremo distal de la carótida externa. Luego se insertó una sutura de nylon 3-0 recubierta con poli-L-lisina en la carótida externa y hasta dentro de la arteria carótida común. La sutura de seda 5-0 atada floja alrededor de la carótida externa estaba ahora suavemente apretada alrededor del filamento. Después se cortó la arteria carótida externa y el trozo restante de la arteria carótida externa con el filamento se giró de manera que el filamento pudo insertarse en la arteria carótida interna dependiendo la longitud de inserción del peso y de la cepa de la rata. En las ratas Sprague Dawley el monofilamento se insertó 18-19°mm (18°mm para las ratas de peso < 300 g, 19°mm para las ratas de peso ≥ 300 g) bloqueando eficazmente el flujo de sangre a la arteria cerebral media.

En la vena yugular externa se insertaron tubos PE 50 para la administración intravenosa de los compuestos. La cánula se exteriorizó en la piel del cuello previamente afeitada, y se suturó en su lugar. La herida se cerró mediante sutura. La arteria femoral derecha se cateterizó para la determinación de los gases y la glucosa en sangre durante la cirugía.

Dos horas después de la inserción de la sutura de monofilamento las ratas se volvieron a anestesiarse con la misma combinación anestésica utilizada inicialmente y se colocaron de nuevo en el cono de la nariz con la reducción de la concentración de isoflurano al 2 %. La incisión en el cuello se volvió a abrir para exponer la arteria carótida externa. La restauración del flujo en sangre se logró retirando completamente la sutura intraluminal de las arterias carótidas. La incisión se cerró con seda 3-0 en puntos interrumpidos.

Administración del compuesto

Cinco grupos de 15 animales se sometieron a la metodología anterior. Los compuestos se infundieron (IV) a diferentes dosis (dosis-respuesta) a lo largo de distintos periodos de tiempo después de la oACM. Una concentración predeterminada se infundió en un periodo de tiempo previamente seleccionado a partir de los diferentes intervalos después de la oACM. Los controles tratados con vehículo recibieron una infusión normalmente de 0,9 ml/h. Un compuesto de control positivo se realiza al mismo tiempo.

Ensayos neurológicos

Antes de la cirugía, 2 horas después del inicio de la isquemia y 24 horas después de la isquemia se realizó una batería de ensayos neurológicos. El ensayo del reflejo postural, que está diseñado para examinar la postura superior del cuerpo, cuando la rata está suspendida por la cola por encima de una superficie plana. Una rata normal extenderá todo el cuerpo y ambos miembros anteriores hacia la superficie. Las ratas con un infarto flexionarán constantemente las extremidades contralaterales y mostrarán signos de rotación del cuerpo. Las ratas respondieron a un empuje lateral suave con un dedo detrás de los hombros. Una rata normal se resistiría a un empuje de este tipo, mientras que una rata con un infarto no lo hará. La extremidad anterior estimulada se colocó en respuesta a los estímulos visuales y táctiles. El animal se sujetó por el cuerpo de modo que la superficie de la pata delantera lateral o dorsal se colocó contra un banco. Este ensayo se repitió pero en esta ocasión obstruyendo la vista de la rata.

Al término de cada experimento, todos los animales se anestesian profundamente con isoflurano (5 %), se sacrificaron por decapitación y los cerebros se retiraron, la extensión y localización de la lesión isquémica se verificó histológicamente por medio de cloruro de tetrazolio.

C. Este ejemplo ilustra la actividad antiinflamatoria de los compuestos de la presente invención usando un modelo de colitis distal inducida por ácido 2,4-dinitrobenzenesulfónico (DNBS) (un modelo de enfermedad inflamatoria intestinal).

Sustancia de ensayo y patrón de dosificación

- 5 Un compuesto de la presente invención se disolvió en un vehículo de Tween 80 al 2 % en agua destilada para la administración oral a una dosis de 50 mg/kg o se disolvió en un vehículo de Tween 80 al 2 % y NaCl al 0,9 % para la inyección intraperitoneal a 30 mg /kg. La dosis se administró una vez al día durante 7 días consecutivos. El volumen de dosificación fue de 10 ml/kg. Se ensayó el DNBS 2 horas después de la dosis del segundo día.

Animales

- 10 En estos estudios, pueden usarse ratas Long Evans, machos Wistar, proporcionadas por el centro de cría de animales de MDS Panlabs Taiwan, Ltd., y ratones derivados de Balb/cByJ (con un peso de 20 ± 2 g), proporcionados por el National Laboratory Animals Breeding Research center (NALBRC, Taiwan). La asignación de espacio de 6 animales puede ser 45 x 23 x 15°cm. Los animales se alojaron en jaulas APEC® (Allentown Caging, Allentown, N.J. 08501, EE.UU.) en un aislador de presión positiva (NuAire®, Modo: Nu-605, velocidad de flujo de aire 50 ± 5 ft/min, filtro HEPA) y se mantuvieron en un ambiente de temperatura (22°C - 24°C) y humedad (60 %-80 %) controladas con ciclos de luz-oscuridad de 12 horas durante al menos una semana en el laboratorio de MDS Panlabs Taiwan, antes de usarse. Se les concedió el acceso libre a la comida de laboratorio convencional para ratas (Fwusow Industry Co., Limited, Taiwan) y a agua del grifo. Todos los aspectos de este trabajo, incluido el alojamiento, la experimentación y la eliminación de los animales se realizaron de conformidad general con los Principios de Guía Internacionales para la Investigación Biomédica que involucra Animales (Publicación CIOMS N.º ISBN 92 90360194, 1985).

Productos químicos

Se obtuvo el DNBS de TCI, Tokio, Japón, el etanol era de Merck, Alemania y la sulfasalazina se adquirió en Sigma, EE.UU.

Equipo

25 Báscula electrónica (Tanita, modelo 1140, Japón), Báscula electrónica (Sartorius, R160P, Alemania), Jeringa de vidrio (2 ml, Mitsuba, Japón), Aguja oral para ratas, Aguja hipodérmica (25G.veces. 1"TOP Corporation, Japón), Tijeras inoxidables (Klappenclear, Alemania), Pinzas inoxidables (Klappenclear, Alemania).

Procedimiento

- 30 Se usaron grupos de ratas machos derivadas de 3 Wistar con un peso de 180 ± 20 g. Se indujo la colitis distal por instilación intracolónica de DNBS (ácido 2,4-dinitrobenzeno sulfónico, 30 mg en 0,5 ml de etanol al 30 %) después de lo cual, se inyectaron 2 ml de aire suavemente a través de la cánula para asegurar que la solución permanece en el colon. La sustancia de ensayo se administró por vía oral (PO) a una dosis de 50 mg/kg o por vía intraperitoneal (IP) a 30 mg/kg una vez al día durante 7 días consecutivos. Se instiló DNBS en el colon distal de cada animal 2 horas después de la dosificación del segundo día. El grupo de control se trató de forma similar con vehículo solo y se usó sulfasalazina (300 mg/kg, PO) como agente de referencia. Los animales se mantuvieron en ayunas 24 horas antes de la exposición al DNBS y 24 horas después del tratamiento final cuando se sacrificaron y cada colon se retiró y se pesó. Durante los experimentos, la presencia de diarrea se registró diariamente. Cuando se abrió la cavidad abdominal antes de la retirada del colon, se observaron adhesiones entre el colon y otros órganos. Después de pesar el colon, se observó el grado de ulceración del colon y se tomó nota también. Después, se calculó la razón peso colon-peso corporal, para cada animal de acuerdo con la fórmula: $\text{Colon (g)/PC} \times 100 \%$. El aumento "Neto" en la razón del grupo vehículos-control + DNBS con respecto al grupo de vehículo-control se usó como un valor de base para la comparación con los grupos tratados con la sustancia de ensayo y se expresó como % de disminución de la inflamación. Una disminución del 30 por ciento o más (30 %) en la razón peso colon-peso corporal "Neta" para cada grupo tratado con sustancia de ensayo con respecto a la razón peso colon-peso corporal "Neta" de cada grupo tratado con vehículo+DNBS se considera significativa.

D. Este ejemplo ilustra la actividad antiinflamatoria de los presentes compuestos usando un modelo de edema de la pata inducido por carragenina (un modelo de inflamación, carragenina).

Sustancia de ensayo y patrón de dosificación

- 50 Un compuesto de la presente invención se disolvió en vehículo de Tween 80 al 2 %/NaCl al 0,9 % y se administró por vía intraperitoneal a una dosis de 30 mg/kg 30 minutos antes de la prueba de carragenina (0,1 ml al 1 %/pata). El volumen de dosificación era de 10 ml/kg.

Animales

Los animales se acondicionaron de acuerdo con los procedimientos establecidos en el Ejemplo anterior.

Productos químicos

El carragenano se obtuvo de TCI, Japón; La solución salina apirógena era de Astar, Taiwan; y la Aspirina se adquirió de ICN Biomedicals, EE.UU.

Equipo

- 5 Jeringa de vidrio (1 ml y 2 ml, Mitsuba, Japón), Aguja hipodérmica 24Gx1" (Top Corporation, Japón), Pletismómetro N.º 7150 (Ugo Basile, Italia) y Células de agua, Diámetro de 25°mm, N.º 7157 (UGO Basile, Italia).

Procedimiento

- 10 La sustancia de ensayo (Ejemplo) se administró por vía IP (30 mg/kg) a grupos de 3 ratas macho derivadas de Long Evans en ayunas durante toda la noche que pesaban 150 ± 20 g 30 minutos antes de la inyección de carragenina en la pata trasera derecha (0,1 ml de suspensión al 1 % intraplantar). El edema de la pata trasera, como una medida de la inflamación, se registró 3 horas después de la administración de carragenina usando un pletismómetro (Ugo Basile, n.º del catálogo 7150) con celda de agua (diámetro de 25°mm, n.º del catálogo 7157). La reducción del edema de la pata trasera en el 30 por ciento o más (> 30 %) indicó actividad antiinflamatoria aguda significativa.

- 15 **E. Este ejemplo ilustra la actividad antiinflamatoria de los presentes compuestos usando un modelo de ratones Balb/c sometidos a artritis inducida por anticuerpo monoclonal (mAb) de colágeno de tipo II.**

Sustancia de ensayo y patrón de dosificación

Un compuesto de la presente invención se disolvió en vehículo de Tween 80 al 2 %/0,9 % a dosis de 50 o 30 y se administraron por vía oral (50 mg/kg) o por vía intraperitoneal a 30 mg/kg una vez al día durante 3 días consecutivos después de que se inyectara anticuerpo monoclonal de colágeno. El volumen de dosificación era de 20 ml/kg

- 20 **Animales**

Los animales se acondicionaron de acuerdo con los procedimientos establecidos en el Ejemplo anterior.

Productos químicos

- 25 El lipopolisacárido se obtuvo de Sigma, EE.UU. La indometacina era de Sigma, EE.UU.; Arthrogen-CIA. TM. Los Anticuerpos Monoclonales D8, F10, DI-2G y A2 se obtuvieron de IBL, Japón; La solución salina tamponada con fosfato se adquirió de Sigma, EE.UU.; y el Tween 80 es de Wako, Japón.

Equipo

Pletismómetro (Ugo Basile, Italia) y célula de agua (Ugo Basile, Italia).

Procedimiento

- 30 Se usaron grupos de 5 ratones de la cepa Balb/cByJ, de 6-8 semanas de edad, para la inducción de artritis por anticuerpos monoclonales (mAb) que responden a colágeno de tipo II, además de lipopolisacárido (LPS). A los animales se les administró por vía intravenosa una combinación de 4 mAb diferentes en un total de 4 mg/ratón el día 0 y seguida de 25 µg de LPS por vía intravenosa 72 horas después (día 3). A partir del día 3, una hora después de la administración del LPS, se administraron ML-659 a 50 mg/kg (PO) o 30 mg/kg (IP) y vehículo (Tween 80 al 2 %/NaCl al 0,9 %, PO), así como la indometacina control positivo, 3 mg/kg (PO), una vez al día durante 3 días consecutivos.
- 35 Se usó un pletismómetro (Ugo Basile n.º del catálogo 7150) con celda de agua (diámetro de 12°mm) para la medición del aumento de volumen de las dos patas traseras el día 0, 5, 7, 10, 14 y 17. El porcentaje de inhibición de aumento de volumen se calculó mediante la siguiente fórmula:

Inhibición (%): $[1-(Tn-a)/(Cn-Co)] \times 100$
Donde:

- 40 Co (Cn): volumen del día 0 (día n) en el control de vehículo
To (Tn): volumen del día 0 (día n) en el grupo tratado con el compuesto de ensayo
La reducción del edema de las dos patas traseras en más de un 30 % se considera significativa.

Ejemplo 7

Modelo de dolor neuropático

- 45 Este ejemplo ilustra la actividad analgésica de los compuestos de la presente invención usando un modelo de dolor mononeuropático de ligadura del nervio ciático.

Sistema de ensayo

5 Se usaron ratas macho adultas Sprague Dawley (SD) que pesaban 250-300 g (Charles River Laboratories, San Diego, CA). La sala de los animales se iluminó artificialmente en un ciclo de 12 horas de luz-oscuridad (desde las 7:00 AM a las 7:00 PM) con agua y suministro de alimentos a discreción. Los animales se asignaron al azar en grupos.

Inducción del modelo

Ligadura del nervio ciático (LNC, modelo de Seltzer):

10 Con anestesia de pentobarbital (50 mg/kg, i.p.) y técnicas asépticas, la lesión selectiva del nervio se creó ligando herméticamente la parte selectiva del nervio ciático común de acuerdo con el procedimiento de Seltzer (1990). Brevemente, el nivel alto del muslo del nervio ciático izquierdo se expuso después de la incisión de la piel y la separación roma de los músculos en un sitio cerca del trocánter distal del punto en el que el nervio semitendinoso del bíceps posterior se ramifica desde del nervio ciático común. Después, el nervio se fijó en esta posición con unas pinzas finas pellizcando el epineuro sobre su cara dorsal, teniendo cuidado de no presionar el nervio contra las estructuras subyacentes. Una sutura de seda 8-0 tratada con silicio se insertó en el nervio con
15 una mini-aguja de corte inverso con un % de curva, y estrechamente ligada de manera que el 1/3-1/2 dorsal del nervio quedó atrapado en la ligadura. Los músculos se suturaron en capas y la piel se cerró con grapas para heridas. Después, los animales se devolvieron a sus jaulas. Las ratas que presentaron déficits neurológicos postoperatorios o poco aseo personal quedaron excluidas de los experimentos.

Equipo

20 Se usó el siguiente equipo en los estudios actuales: Conjunto de filamentos de von Frey (Touch-test Sensory Evaluator, North Coast Medical Inc., Morgan Hill, CA)

Procedimientos Estadísticos:

25 Dentro de cada media del experimento, se calcularon el error estándar de la media (EEM) y la significación estadística usando el promedio, el error estándar de la media y funciones de ensayo t bilateral, no apareadas, respectivamente, usando Microsoft Excel®. La significación estadística de los efectos observados entre los experimentos individuales se determinaron, usando Prism (GraphPad Software Inc., San Diego, CA) para el análisis de la función de la varianza (ANOVA) de una vía o de dos vías. Los análisis estadísticos se realizaron con un límite de confianza de 0,95 y un nivel de significación de 0,05.

Ejemplo 8**30 Formación de poros**

35 Se sembraron células THP-1 (ATCC n.º del catálogo 285-IF-100) en placas de 96 pocillos a una concentración de 200.000 células por pocillo y se les permitió diferenciarse en medio RPMI-1640 (ATCC n.º del catálogo 30-2001) que contenía SFB al 10 %, penicilina 100 UI/ml, estreptomycinina 100 ug/ml, LPS 100 ng/ml y IFN- γ 100 ng/ml durante 16 horas. Después de la diferenciación, las células se pretrataron con el compuesto de interés a la concentración apropiada durante 30 minutos en medio RPMI-1640 que contenía penicilina 100 UI/ml, estreptomycinina 100 ug/ml. El medio de pretratamiento después se reemplazó por tampón de ensayo (HEPES 20°mM, D-glucosa 10 mM, NMDG 118°mM, KCl 5 mM, CaCl₂ 0,4°mM) que contenía Yo-Pro 1 5 uM (Molecular Probes n.º del catálogo Y3603) y el compuesto de interés a la concentración apropiada y las células se incubaron durante 10 minutos adicionales.
40 Después, se añadió 5'-trifosfato de 2',3'-O-(4-benzoilbenzoil)adenosina (Sigma Aldrich n.º del catálogo B6396) a una concentración final de 40 uM y las lecturas de fluorescencia se midieron a 491/509 excitación/emisión cada minuto durante 50 minutos usando un lector de placas Tecan Safire. Durante este tiempo la temperatura se mantuvo a 37 °C. Los niveles de fluorescencia ajustados de fondo entre las células tratadas y no tratadas con fármaco se usaron para calcular el porcentaje de inhibición.

Ejemplo 9**45 Ensayo de liberación de IL-1 β**

50 Se sembraron células THP-1 (ATCC n.º del catálogo 285-IF-100) en placas de 96 pocillos a una concentración de 200.000 células por pocillo y se les permitió diferenciarse en medio RPMI-1640 (ATCC n.º del catálogo 30-2001) que contenía SFB al 10 %, penicilina 100 UI/ml, estreptomycinina 100 ug/ml, LPS 100 ng/ml y IFN- γ 100 ng/ml durante 16 horas. Después de la diferenciación, las células se trataron durante 2 horas adicionales en medio RPMI-1640 que contenía penicilina 100 UI/ml, estreptomycinina 100 ug/ml y LPS fresco a 100 ng/ml. Después, las células se pretrataron durante 30 minutos con el compuesto de interés a la concentración apropiada en medio RPMI que contenía penicilina 100 UI/ml, estreptomycinina 100 ug/ml. Tras el tratamiento previo se añadió 5'-trifosfato de 2',3'-O-(4-benzoilbenzoil)adenosina (Sigma Aldrich n.º del catálogo B6396) a una concentración final de 250 uM y las células se incubaron durante 45 minutos. Después, se recogieron 30 μ l del sobrenadante de células y se

determinaron los niveles de IL-1 β mediante ELISA (R & D Systems n.º del catálogo HSLB50) de acuerdo con las recomendaciones del fabricante usando el lector de placas Tecan Safire. Los niveles de IL-1 β ajustados de fondo entre las células tratadas y no tratadas con fármaco se usaron para calcular el porcentaje de inhibición.

5 Los ejemplos de síntesis y biológicos que se describen en la presente solicitud se ofrecen para ilustrar la presente invención y no deben ser interpretados de ninguna manera como limitantes del ámbito de la presente invención. En los ejemplos, todas las temperaturas están en grados Celsius (a menos que se indique lo contrario). Los compuestos que se han preparado de acuerdo con la invención junto con sus datos de actividad biológica se presentan en las siguientes Tablas. Las síntesis de estos compuestos representativos se realizan de acuerdo con los procedimientos establecidos anteriormente.

10 **Compuestos de ejemplo de la invención**

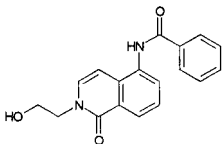
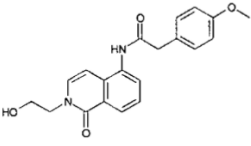
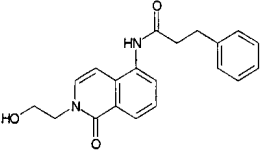
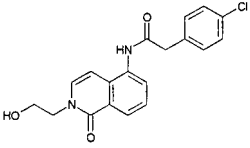
Los siguientes compuestos se han preparado o pueden prepararse de acuerdo con los procedimientos de síntesis descritos anteriormente. Para los fines de la Tabla 1 a continuación, la actividad de cada compuesto, que puede determinarse usando el procedimiento de ensayo de IL-1 β descrito en el Ejemplo 9, se expresa de la siguiente manera:

- 15 "+" el compuesto mostró una inhibición del 0-25 % a una concentración de 0,3 μ M
 "++" el compuesto mostró una inhibición del 25-50 % a una concentración de 0,3 μ M
 "+++" el compuesto mostró una inhibición del 51-75 % a una concentración de 0,3 μ M
 "++++" el compuesto mostró una inhibición del 76 % o mayor a una concentración de 0,3 μ M
 20 "*)" el compuesto mostró una inhibición del 0-25 % a una concentración de 0,1 μ M
 "****" el compuesto mostró una inhibición del 26-50 % a una concentración de 0,1 μ M
 "*****" el compuesto mostró una inhibición del 51-75 % a una concentración de 0,1 μ M
 "*****" el compuesto mostró una inhibición del 76 % o mayor a una concentración de 0,1 μ M

Los compuestos con un porcentaje de inhibición representado por "++++" o "*****" son de particular interés.

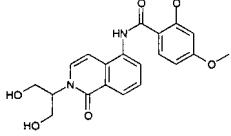
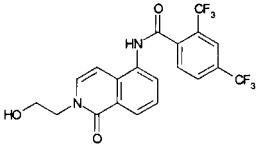
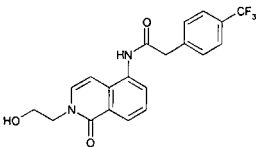
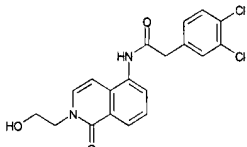
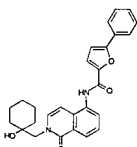
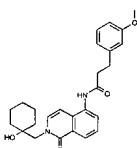
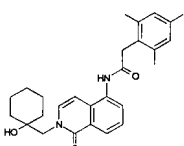
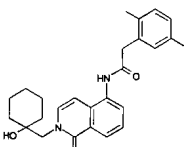
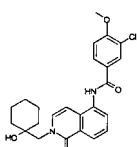
25 Con respecto a los datos de espectrometría de masas (EM) que se presentan a continuación, "Δ" indica la observación de un posible aducto de iones Na⁺:

TABLA 1: % de inhibición de IL-1 β de los Compuestos de Ejemplo

ID	Estructura	PM	EM (Obs)	% de Inhib de IL-1 β a 0,3 o 0,1 μ M
1		308,34	309,00	+
2		352,39	353,10	+
3		336,39	337,50	+++
4		356,81	356,90	++

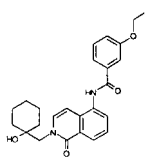
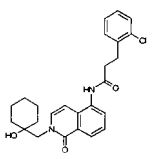
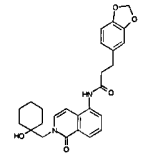
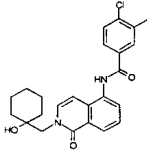
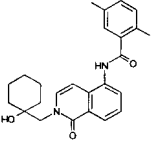
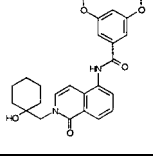
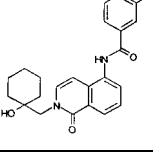
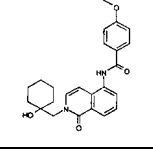
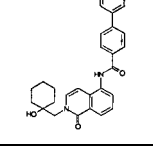
ES 2 569 352 T3

(continuación)

ID	Estructura	PM	EM (Obs)	% de Inhib de IL-1 β a 0,3 o 0,1 μ M
5		398,41	399,30	+
6		444,33	445,00	++
7		390,36	391,40	++
8		391,25	392,80	++++
9		442,51	443,44	*
10		434,53	435,57	*
11		432,56	433,52	
12		418,53	419,50	
13		440,92	441,35	

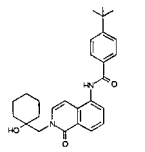
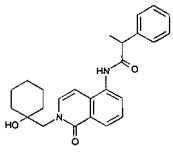
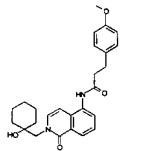
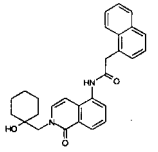
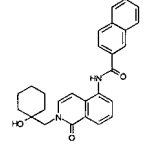
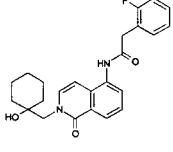
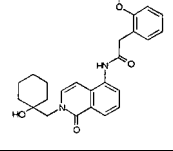
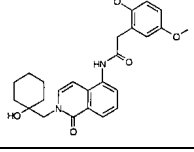
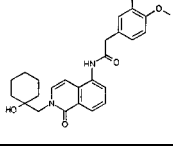
ES 2 569 352 T3

(continuación)

ID	Estructura	PM	EM (Obs)	% de Inhib de IL-1 β a 0,3 o 0,1 μ M
14		420,51	421,39	
15		438,95	439,55	
16		448,52	449,45	
17		424,93	425,12	+
18		404,51	405,51	
19		436,51	437,55	*
20		390,48	391,38	*
21		420,51	421,38	*
22		452,55	453,34	*

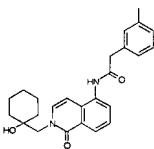
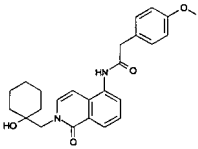
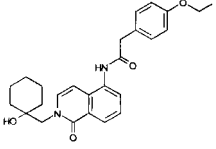
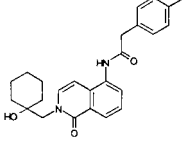
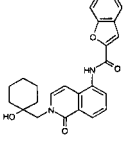
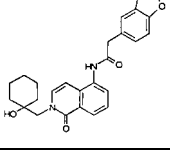
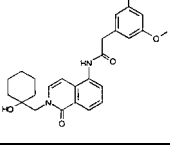
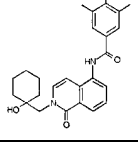
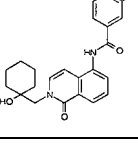
ES 2 569 352 T3

(continuación)

ID	Estructura	PM	EM (Obs)	% de Inhib de IL-1 β a 0,3 o 0,1 μ M
23		432,56	433,53	*
24		404,51	405,52	**
25		434,53	435,60	+
26		440,54	441,47	+
27		426,51	427,41	+
28		408,47	409,50	+
29		420,51	421,39	++
30		450,53	451,39	+
31		450,53	451,38	+

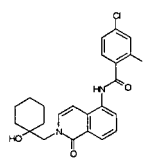
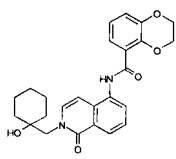
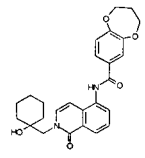
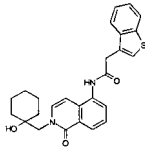
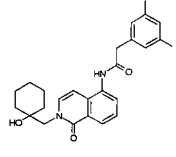
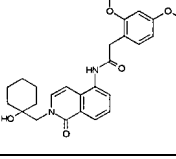
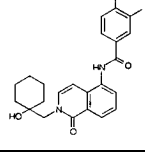
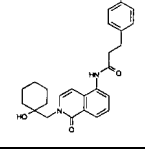
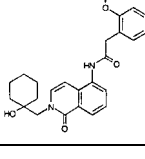
ES 2 569 352 T3

(continuación)

ID	Estructura	PM	EM (Obs)	% de Inhib de IL-1 β a 0,3 o 0,1 μ M
32		404,51	405,52	+
33		420,51	421,40	+
34		434,53	435,62	+
35		404,51	405,55	++
37		416,47	417,43	+
38		434,49	435,56	+
39		450,53	451,38	+
40		434,53	435,61	+
41		424,93	425,14	

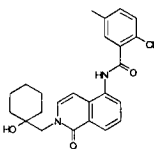
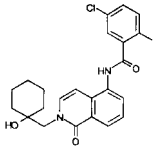
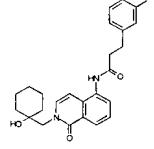
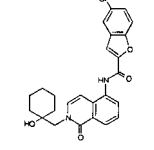
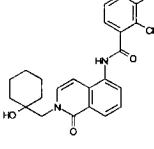
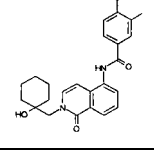
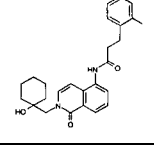
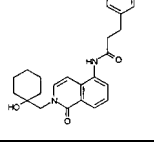
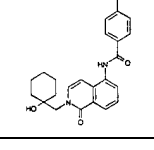
ES 2 569 352 T3

(continuación)

ID	Estructura	PM	EM (Obs)	% de Inhib de IL-1 β a 0,3 o 0,1 μ M
42		424,93	425,12	
43		434,49	435,54	
44		448,52	449,43	
45		446,57	447,47	
46		418,53	419,51	
47		450,53	451,19	+
48		408,47	409,33	+
49		438,95	439,20	+
50		434,53	435,30	+

ES 2 569 352 T3

(continuación)

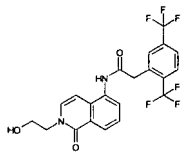
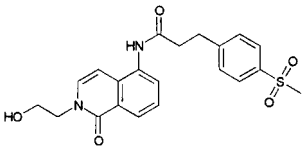
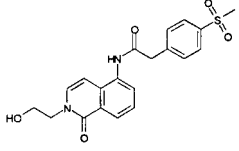
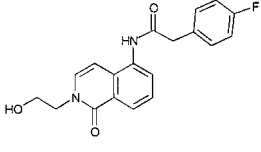
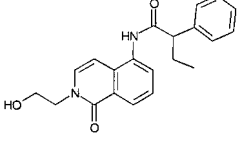
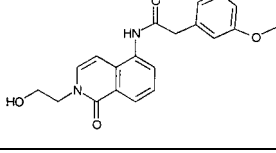
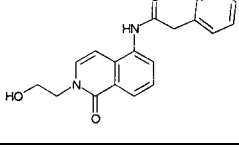
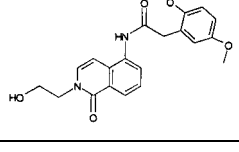
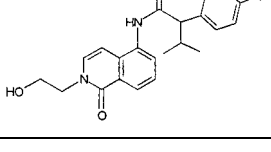
ID	Estructura	PM	EM (Obs)	% de Inhib de IL-1 β a 0,3 o 0,1 μ M
51		424,93	425,11	+
52		424,93	425,10	+
53		418,53	419,40	+
54		450,92	451,14	++
55		424,93	425,11	+
56		420,51	421,19	+
57		432,56	433,49	
58		438,95	439,56	++
59		432,56	433,56	++

(continuación)

ID	Estructura	PM	EM (Obs)	% de Inhib de IL-1 β a 0,3 o 0,1 μ M
61		472,38	473,40	+
62		472,38	473,00	++++
63		380,40	381,20	+
64		458,36	459,00	+++
65		424,80	425,20	++++
66		431,28	432,70	++++
67		424,80	424,80	+
68		424,80	425,30	++
69		391,25	391,00	++++

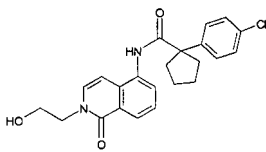
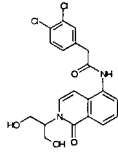
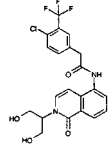
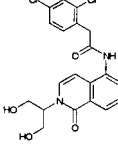
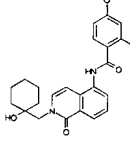
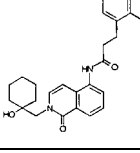
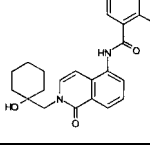
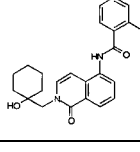
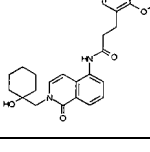
ES 2 569 352 T3

(continuación)

ID	Estructura	PM	EM (Obs)	% de Inhib de IL-1 β a 0,3 o 0,1 μ M
70		458,36	459,00	++
71		414,48	415,20	+
72		400,45	401,20	+
73		340,35	341,00	++
74		350,42	351,10	+
75		352,39	352,80	+
76		322,36	323,20	+
77		382,41	383,00	+
78		398,89	399,30	+

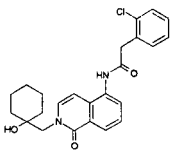
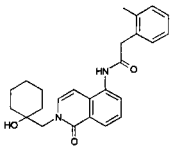
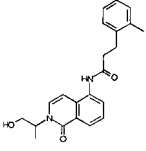
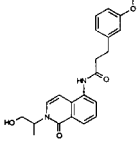
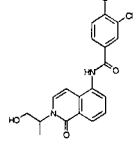
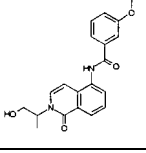
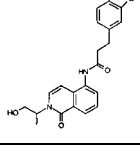
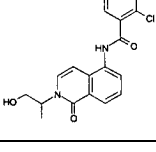
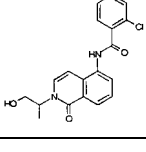
ES 2 569 352 T3

(continuación)

ID	Estructura	PM	EM (Obs)	% de Inhib de IL-1 β a 0,3 o 0,1 μ M
79		410,90	411,20	+
80		421,28	421,20	++++
81		454,83	455,10	++++
82		421,28	420,80	+++
83		420,51	421,38	*
84		418,53	419,49	*
85		404,51	405,56	*
86		404,51	405,56	*
87		434,53	435,57	*

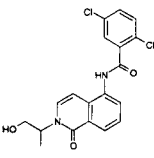
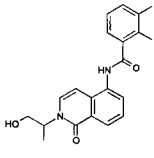
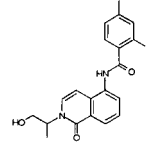
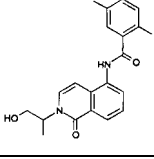
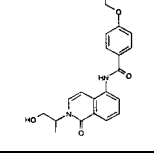
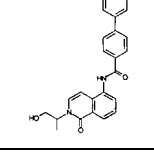
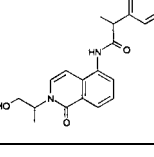
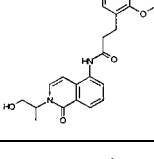
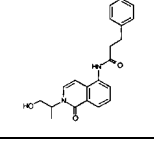
ES 2 569 352 T3

(continuación)

ID	Estructura	PM	EM (Obs)	% de Inhib de IL-1 β a 0,3 o 0,1 μ M
88		424,93	425,16	*
89		404,51	405,54	*
90		364,44	365,41	**
91		380,44	381,35	*
92		386,83	387,18	*
93		366,41	367,35	*
94		394,42	395,28	*
95		356,81	357,47	*
96		391,25	391,29	*

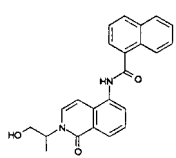
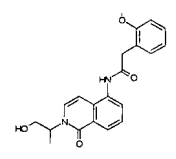
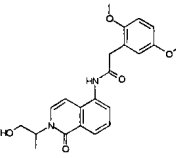
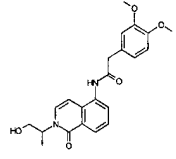
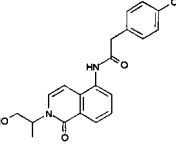
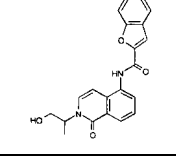
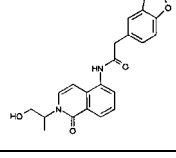
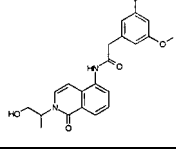
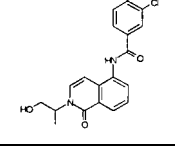
ES 2 569 352 T3

(continuación)

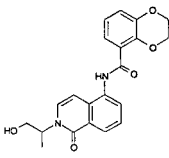
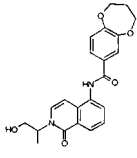
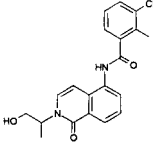
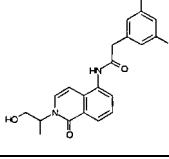
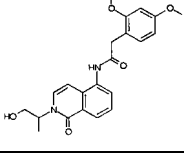
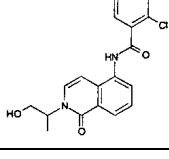
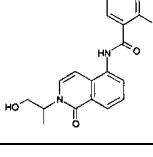
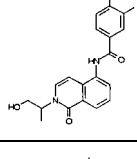
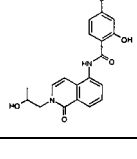
ID	Estructura	PM	EM (Obs)	% de Inhib de IL-1 β a 0,3 o 0,1 μ M
97		391,25	391,30	*
98		350,42	351,47	*
99		350,42	351,48	*
100		350,42	351,47	*
101		366,41	367,23	*
102		398,46	399,20	*
103		350,42	351,31	*
104		380,44	381,33	*
105		380,44	381,48	*

ES 2 569 352 T3

(continuación)

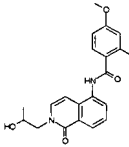
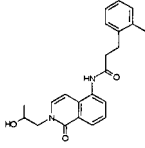
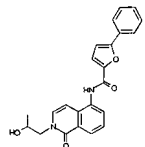
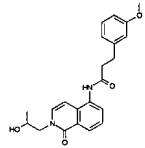
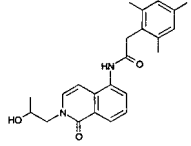
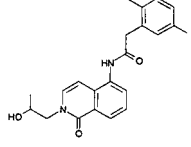
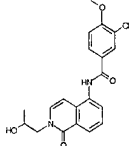
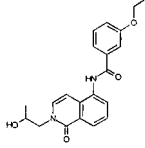
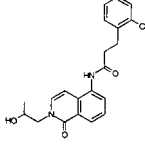
ID	Estructura	PM	EM (Obs)	% de Inhib de IL-1 β a 0,3 o 0,1 μ M
106		372,42	373,30	*
107		366,41	367,32	*
108		396,44	397,29	*
109		396,44	397,30	*
110		366,41	367,34	*
112		362,38	363,31	*
113		380,40	381,31	*
114		396,44	397,14	*
115		370,83	371,12	*

(continuación)

ID	Estructura	PM	EM (Obs)	% de Inhib de IL-1 β a 0,3 o 0,1 μ M
116		380,40	381,30	*
117		394,42	395,27	*
118		370,83	371,11	**
119		364,44	365,36	*
120		396,44	397,29	*
121		370,83	371,12	*
122		370,83	371,11	*
123		366,41	367,32	*
124		382,41	383,43	*

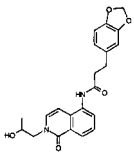
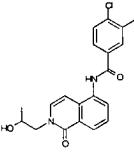
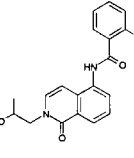
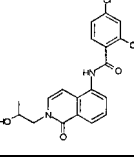
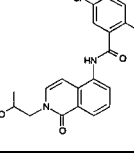
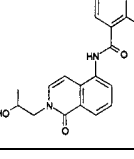
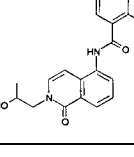
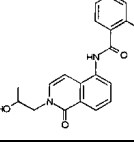
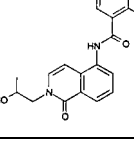
ES 2 569 352 T3

(continuación)

ID	Estructura	PM	EM (Obs)	% de Inhib de IL-1 β a 0,3 o 0,1 μ M
125		366,41	367,28	*
126		364,44	365,42	**
127		388,42	389,23	*
128		380,44	381,33	*
129		378,47	379,47	*
130		364,44	365,37	**
131		386,83	387,17	*
132		366,41	367,35	*
133		384,86	385,49	**

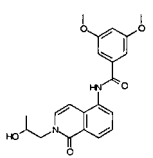
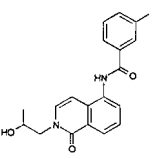
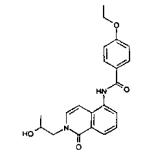
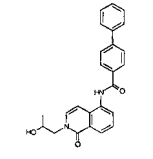
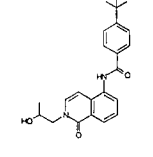
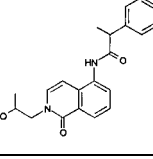
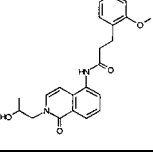
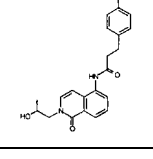
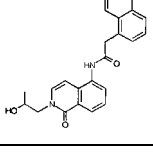
ES 2 569 352 T3

(continuación)

ID	Estructura	PM	EM (Obs)	% de Inhib de IL-1 β a 0,3 o 0,1 μ M
134		394,42	395,28	*
135		370,83	371,10	*
136		356,81	357,46	*
137		391,25	391,31	*
138		391,25	391,27	*
139		336,39	337,45	**
140		350,42	351,49	*
141		350,42	351,49	*
142		350,42	351,48	*

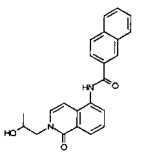
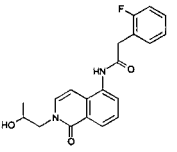
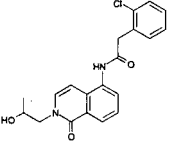
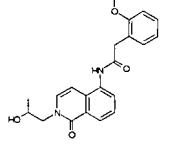
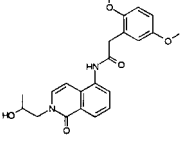
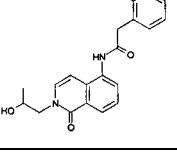
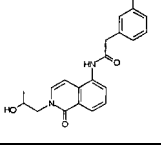
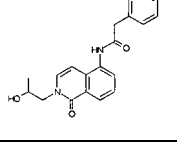
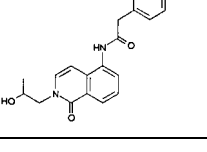
ES 2 569 352 T3

(continuación)

ID	Estructura	PM	EM (Obs)	% de Inhib de IL-1 β a 0,3 o 0,1 μ M
143		382,41	383,39	*
144		336,39	337,41	*
145		366,41	367,34	*
146		398,46	399,18	*
147		378,47	379,34	*
148		350,42	351,31	*
149		380,44	381,32	*
150		380,44	381,47	**
151		386,45	387,27	*

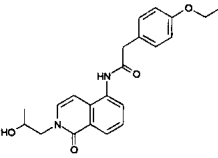
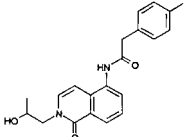
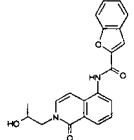
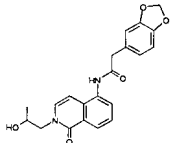
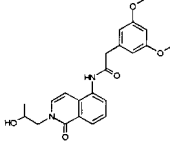
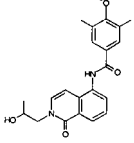
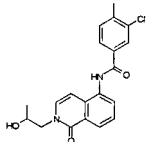
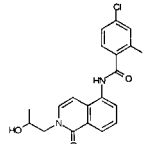
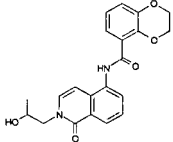
ES 2 569 352 T3

(continuación)

ID	Estructura	PM	EM (Obs)	% de Inhib de IL-1 β a 0,3 o 0,1 μ M
152		372,42	373,32	*
153		354,38	355,40	*
154		370,83	371,05	*
155		366,41	367,34	*
156		396,44	397,30	**
157		350,42	351,47	*
158		366,41	367,32	*
159		350,42	351,45	*
160		366,41	367,30	*

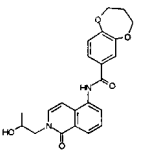
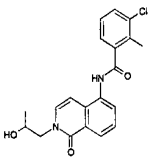
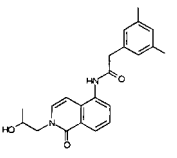
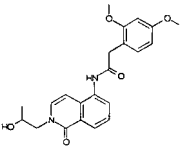
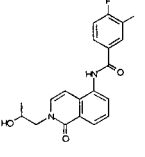
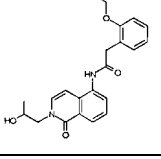
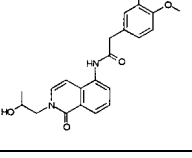
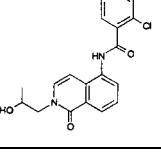
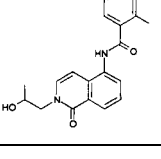
ES 2 569 352 T3

(continuación)

ID	Estructura	PM	EM (Obs)	% de Inhib de IL-1 β a 0,3 o 0,1 μ M
161		380,44	381,46	*
162		350,42	351,46	*
164		362,38	363,30	*
165		380,40	381,46	*
166		396,44	397,29	*
167		380,44	381,47	*
168		370,83	371,08	*
169		370,83	371,12	*
170		380,40	381,46	**

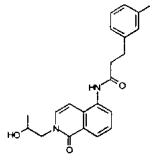
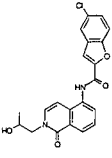
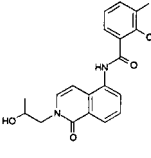
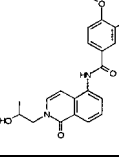
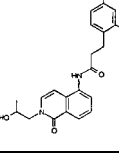
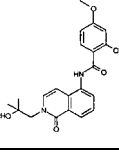
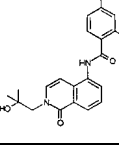
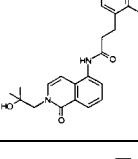
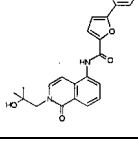
ES 2 569 352 T3

(continuación)

ID	Estructura	PM	EM (Obs)	% de Inhib de IL-1 β a 0,3 o 0,1 μ M
171		394,42	395,27	*
172		370,83	371,07	***
173		364,44	365,38	**
174		396,44	397,12	*
175		354,38	355,42	*
176		380,44	381,47	*
177		380,44	381,47	*
178		370,83	371,09	*
179		370,83	371,07	*

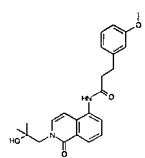
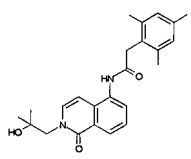
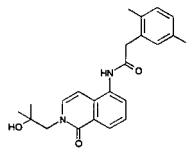
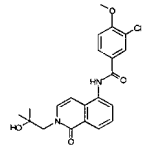
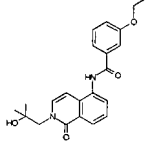
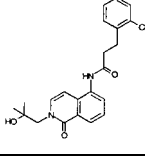
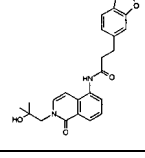
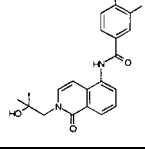
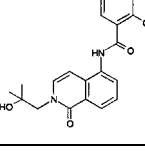
ES 2 569 352 T3

(continuación)

ID	Estructura	PM	EM (Obs)	% de Inhib de IL-1 β a 0,3 o 0,1 μ M
180		364,44	365,39	*
181		396,83	397,21	*
182		370,83	371,08	*
183		366,41	367,35	**
184		378,47	379,45	*
185		396,44	397,14	*
186		380,44	381,33	*
187		378,47	379,39	*
188		402,45	403,23	*

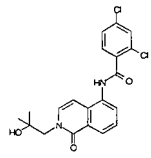
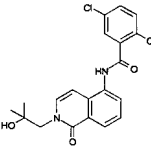
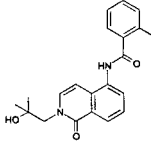
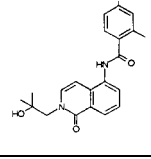
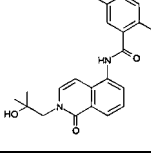
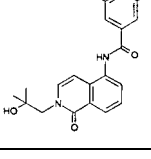
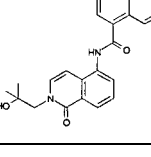
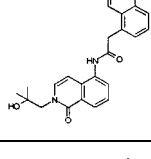
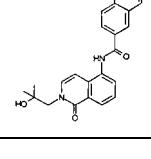
ES 2 569 352 T3

(continuación)

ID	Estructura	PM	EM (Obs)	% de Inhib de IL-1 β a 0,3 o 0,1 μ M
189		394,47	395,29	*
190		392,50	393,36	*
191		378,47	379,45	*
192		400,86	401,35	*
193		380,44	381,47	*
194		398,89	399,15	*
195		408,45	409,47	*
196		384,86	385,47	*
197		370,83	371,08	***

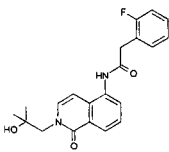
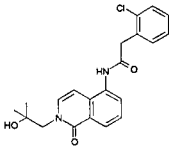
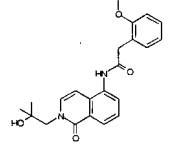
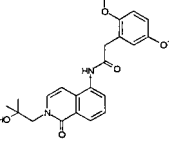
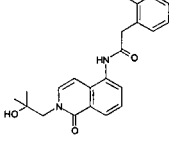
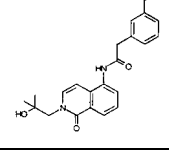
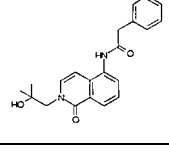
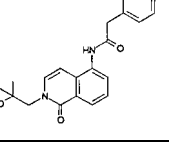
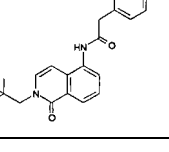
ES 2 569 352 T3

(continuación)

ID	Estructura	PM	EM (Obs)	% de Inhib de IL-1 β a 0,3 o 0,1 μ M
198		405,28	405,38	*
199		405,28	405,37	*
200		350,42	351,48	*
201		364,44	365,36	*
202		364,44	365,37	*
203		405,28	405,31	*
204		386,45	387,27	*
205		400,48	401,40	*
206		386,45	387,26	*

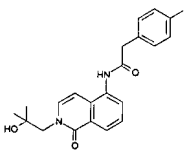
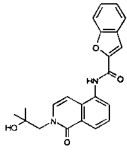
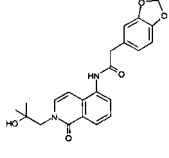
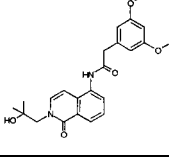
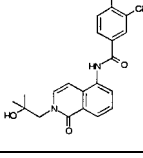
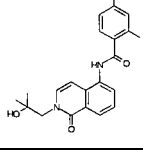
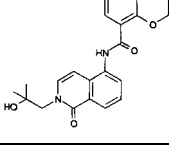
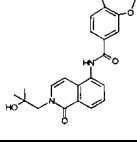
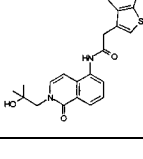
ES 2 569 352 T3

(continuación)

ID	Estructura	PM	EM (Obs)	% de Inhib de IL-1 β a 0,3 o 0,1 μ M
207		368,41	369,21	*
208		384,86	385,41	*
209		380,44	381,48	*
210		410,47	411,59	*
211		364,44	365,39	*
212		380,44	381,48	**
213		364,44	365,39	*
214		380,44	381,37	*
215		394,47	395,29	**

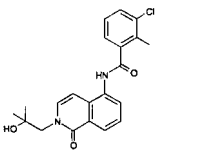
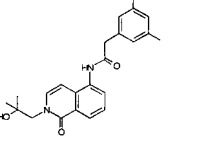
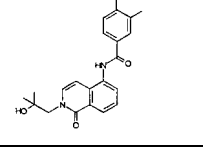
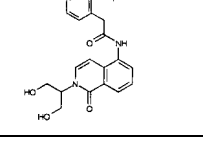
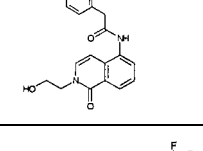
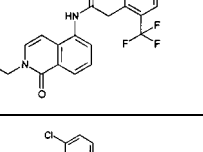
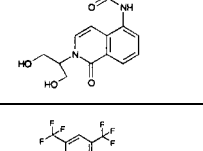
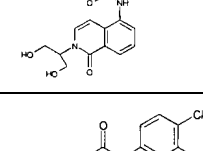
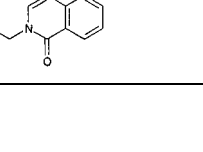
ES 2 569 352 T3

(continuación)

ID	Estructura	PM	EM (Obs)	% de Inhib de IL-1 β a 0,3 o 0,1 μ M
216		364,44	365,41	*
217		376,41	377,33	*
218		394,42	395,26	*
219		410,47	411,48	*
220		384,86	385,26	**
221		384,86	385,31	**
222		394,42	395,27	*
223		408,45	409,48	*
224		406,50	407,36	**

ES 2 569 352 T3

(continuación)

ID	Estructura	PM	EM (Obs)	% de Inhib de IL-1 β a 0,3 o 0,1 μ M
225		384,86	385,26	*
226		378,47	379,40	*
227		380,44	381,48	*
228		454,83	455,10	+++
229		424,80	425,30	+++
230		458,36	459,10	++++
231		400,86	401,30	++
233		488,38	489,00	++
234		404,30	403,90	+++

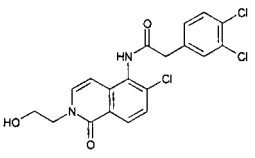
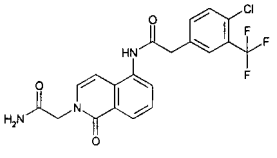
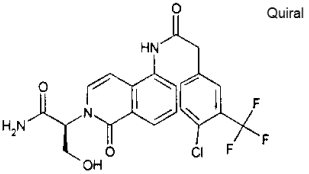
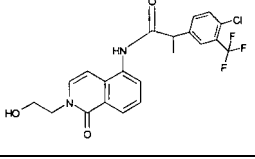
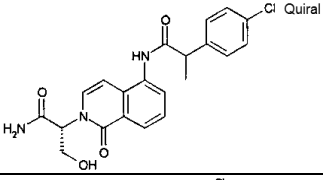
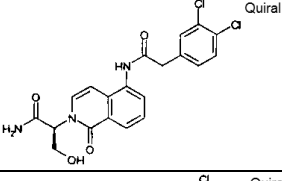
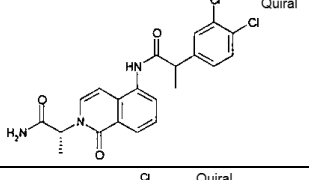
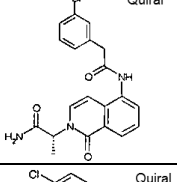
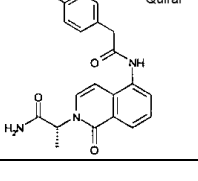
ES 2 569 352 T3

(continuación)

ID	Estructura	PM	EM (Obs)	% de Inhib de IL-1 β a 0,3 o 0,1 μ M
235		437,85	437,60	++++
236		418,28	418,20	++++
237		451,83	452,20	++++
238		451,83	452,60	++++
239		418,28	418,30	++++
240		397,86	398,40	++++
241		451,83	452,10	++++
244		370,83	371,30	++
247		397,86	397,50	++++

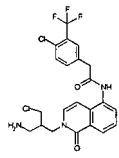
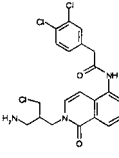
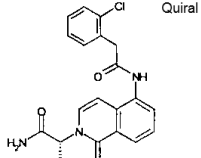
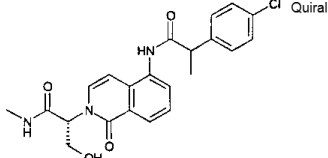
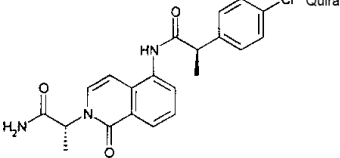
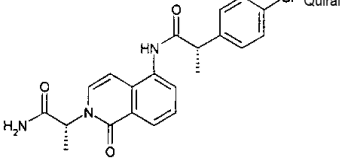
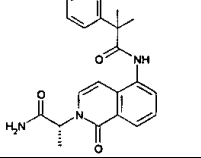
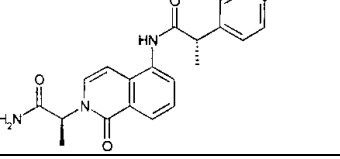
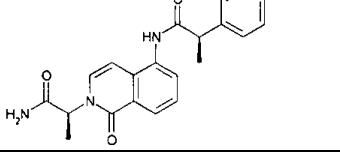
ES 2 569 352 T3

(continuación)

ID	Estructura	PM	EM (Obs)	% de Inhib de IL-1 β a 0,3 o 0,1 μ M
248		425,70	426,90	+
249		437,80	437,40	++++
250		467,83	468,30	++++
251		438,83	438,90	++++
252		413,86	414,30	+++
253		434,28	434,10	++
254		432,31	433,80	++++
255		383,83	385,60	++++
256		383,83	383,90	++++

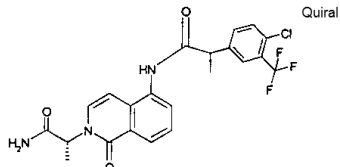
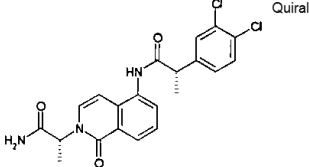
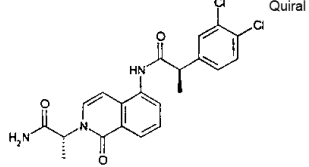
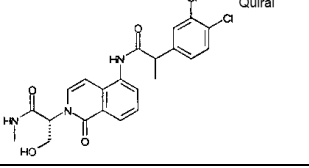
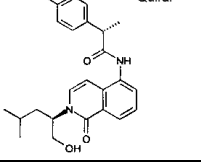
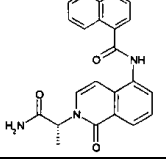
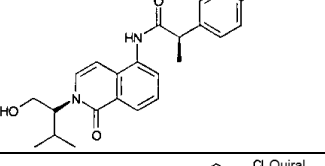
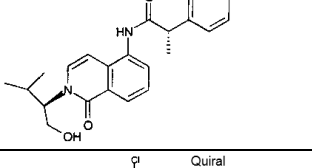
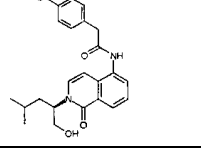
ES 2 569 352 T3

(continuación)

ID	Estructura	PM	EM (Obs)	% de Inhib de IL-1 β a 0,3 o 0,1 μ M
258		486,32	486,20	++++
259		452,77	453,20	+++
260		383,83	384,00	+
261		427,89	427,80	+++
262		397,86	400,00	++++
263		397,86	398,50	++++
264		411,89	412,10	++
265		397,86	398,40	++++
266		397,86	397,80	++++

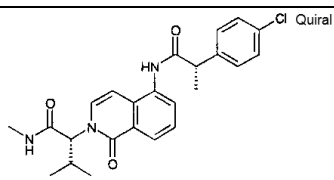
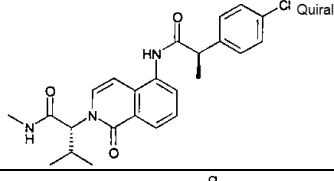
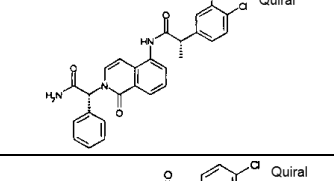
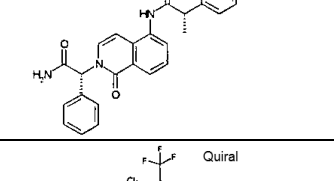
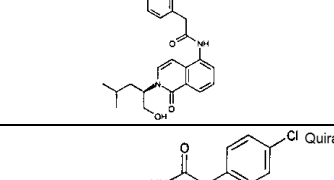
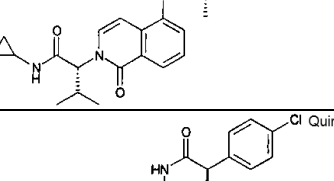
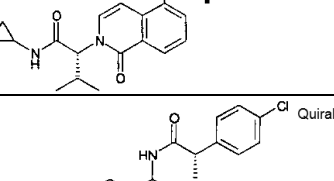
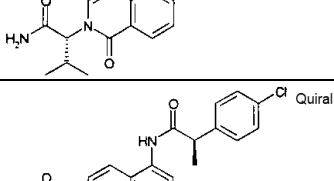
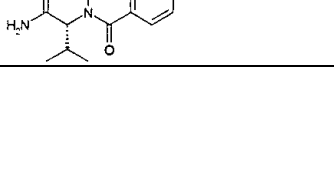
ES 2 569 352 T3

(continuación)

ID	Estructura	PM	EM (Obs)	% de Inhib de IL-1 β a 0,3 o 0,1 μ M
267		465,86	466,10	++++
268		432,31	432,10	++++
269		432,31	433,50	++++
270		462,33	462,40	++++
271		426,94	427,20	++++
272		386,41	386,70	+
273		412,91	413,10	++++
274		412,91	413,30	++++
275		447,36	447,20	++++

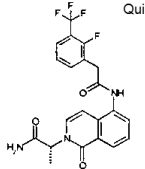
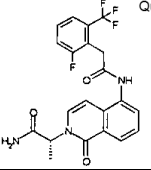
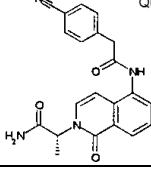
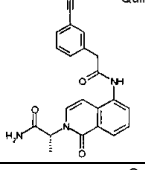
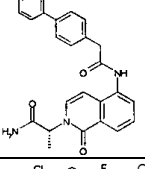
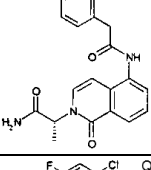
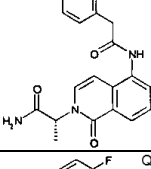
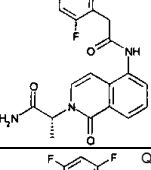
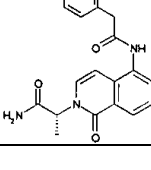
ES 2 569 352 T3

(continuación)

ID	Estructura	PM	EM (Obs)	% de Inhib de IL-1 β a 0,3 o 0,1 μ M
276		439,94	440,30	++++
277		439,94	440,30	++++
278		494,38	494,20	++++
279		459,93	460,00	++++
280		480,91	481,10	++++
281		465,98	465,80	++++
282		465,98	466,20	++++
283		425,91	426,20	++++
284		425,91	426,20	++++

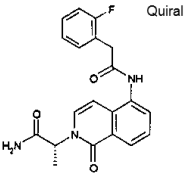
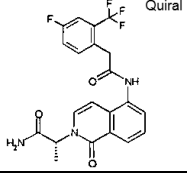
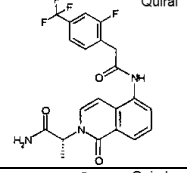
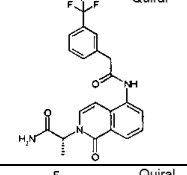
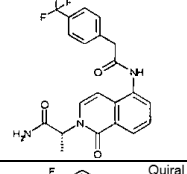
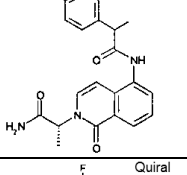
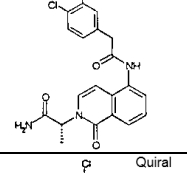
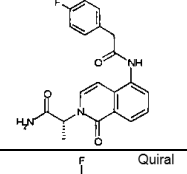
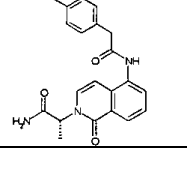
ES 2 569 352 T3

(continuación)

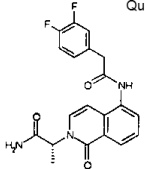
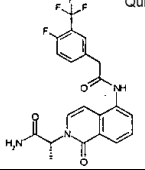
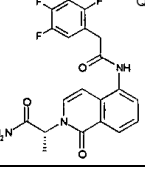
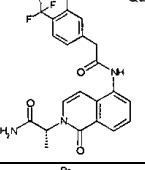
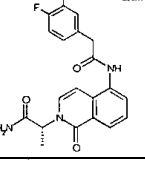
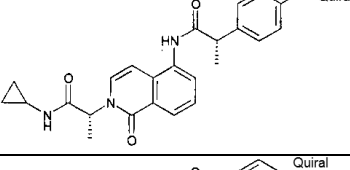
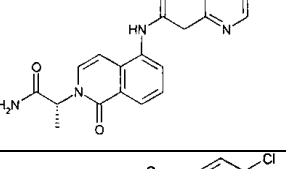
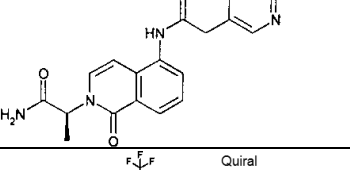
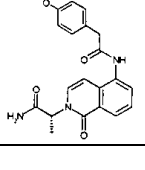
ID	Estructura	PM	EM (Obs)	% de Inhib de IL-1 β a 0,3 o 0,1 μ M
285	 Quiral	435,38	436,30	++++
286	 Quiral	435,38	436,00	++
287	 Quiral	374,40	374,80	++
288	 Quiral	374,40	374,90	+
289	 Quiral	425,49	426,10	++++
290	 Quiral	401,82	402,10	++++
291	 Quiral	401,82	402,20	++++
292	 Quiral	385,37	386,20	+
293	 Quiral	385,37	386,20	++++

ES 2 569 352 T3

(continuación)

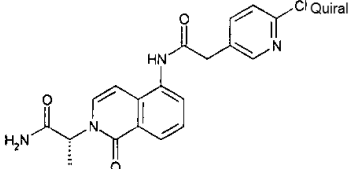
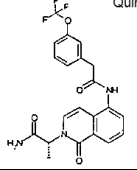
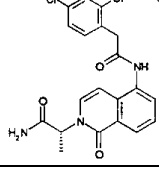
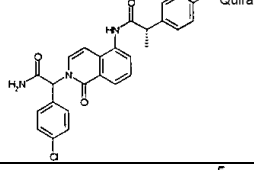
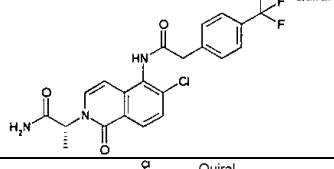
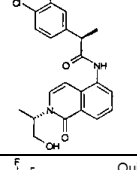
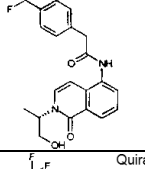
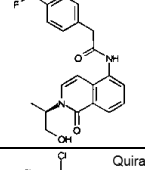
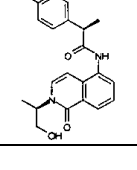
ID	Estructura	PM	EM (Obs)	% de Inhib de IL-1 β a 0,3 o 0,1 μ M
294	 Quiral	367,38	367,80	++
295	 Quiral	435,38	436,10	+++
296	 Quiral	435,38	436,40	++++
297	 Quiral	417,39	418,40	++++
298	 Quiral	417,39	418,40	++++
299	 Quiral	381,41	382,10	++++
300	 Quiral	401,82	402,10	++++
301	 Quiral	401,82	402,20	++++
302	 Quiral	381,41	382,20	++++

(continuación)

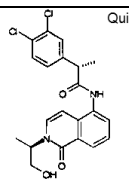
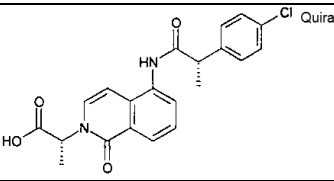
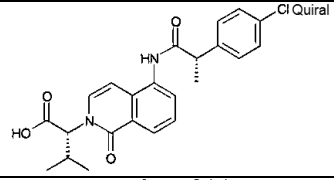
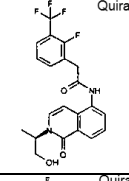
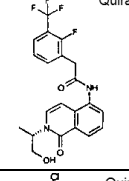
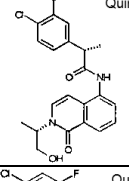
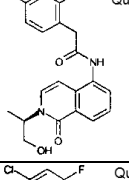
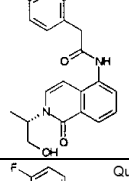
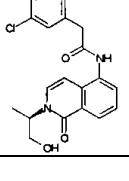
ID	Estructura	PM	EM (Obs)	% de Inhib de IL-1 β a 0,3 o 0,1 μ M
303		385,37	386,30	++++
304		435,38	436,20	++++
305		403,36	404,10	++++
306		435,38	436,10	++++
307		446,27	448,20	++++
308		437,92	438,30	+++
309		350,38	351,00	+
310		384,82	385,10	+
311		433,38	434,10	+++

ES 2 569 352 T3

(continuación)

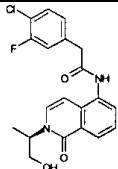
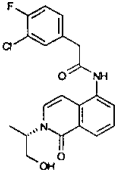
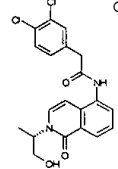
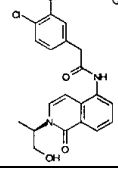
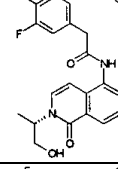
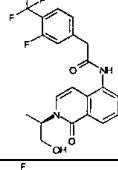
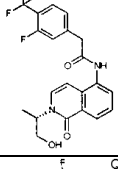
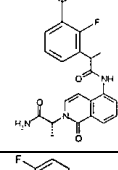
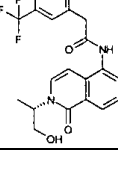
ID	Estructura	PM	EM (Obs)	% de Inhib de IL-1 β a 0,3 o 0,1 μ M
312		384,82	385,10	+
313		433,38	434,00	+
314		418,28	418,10	++++
315		494,38	494,20	+++
316		451,83	452,20	++++
317		419,31	419,30	++++
318		404,39	405,00	+++
319		404,39	405,10	++++
320		419,31	419,30	++++

(continuación)

ID	Estructura	PM	EM (Obs)	% de Inhib de IL-1 β a 0,3 o 0,1 μ M
321		419,31	419,20	++++
322		398,84	399,00	++
323		426,90	427,10	+++
324		422,38	423,20	++++
325		422,38	422,90	++++
326		419,31	419,30	+++
327		388,82	389,30	++++
328		388,82	389,00	+++
329		388,82	389,30	+++

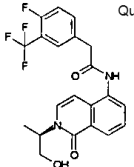
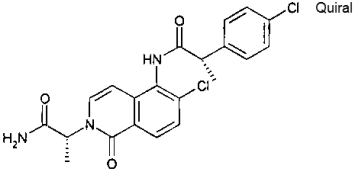
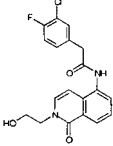
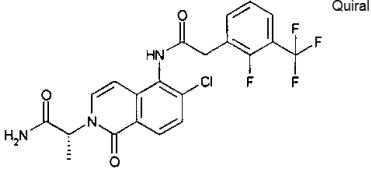
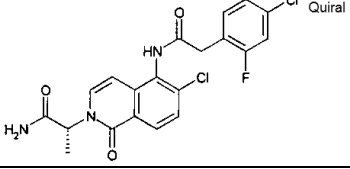
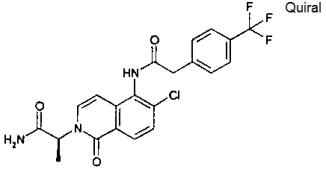
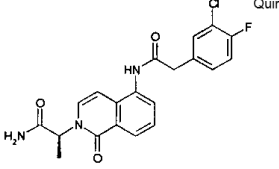
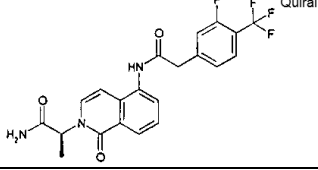
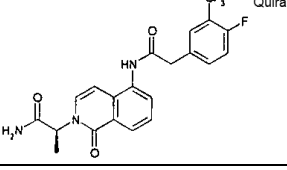
ES 2 569 352 T3

(continuación)

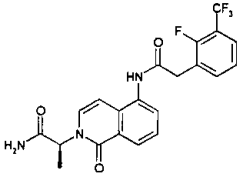
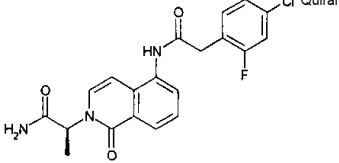
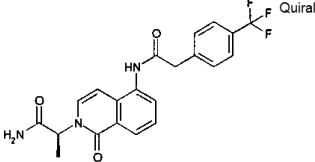
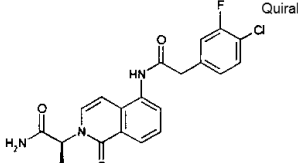
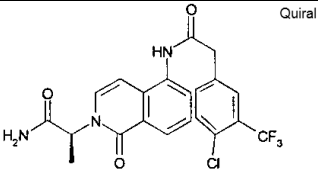
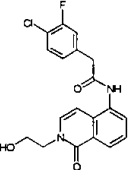
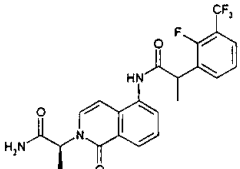
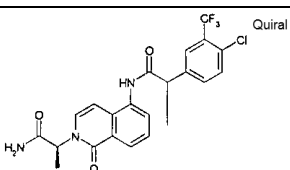
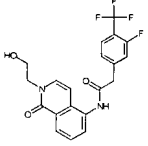
ID	Estructura	PM	EM (Obs)	% de Inhib de IL-1 β a 0,3 o 0,1 μ M
330	 <p>Quiral</p>	388,82	389,00	++++
331	 <p>Quiral</p>	388,82	389,10	+++
332	 <p>Quiral</p>	405,28	405,00	++++
333	 <p>Quiral</p>	405,28	405,10	++++
334	 <p>Quiral</p>	388,82	389,10	+++
335	 <p>Quiral</p>	422,38	423,30	++++
336	 <p>Quiral</p>	422,38	423,20	++++
337	 <p>Quiral</p>	449,40 Δ	472,40	++++
338	 <p>Quiral</p>	422,38	423,30	++++

ES 2 569 352 T3

(continuación)

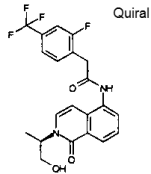
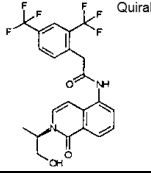
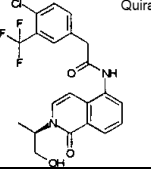
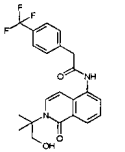
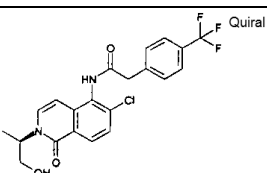
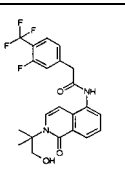
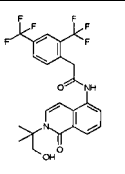
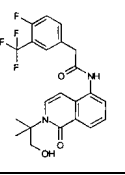
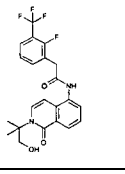
ID	Estructura	PM	EM (Obs)	% de Inhib de IL-1 β a 0,3 o 0,1 μ M
339	 Quiral	422,38	423,20	++++
340	 Quiral	432,31	432,10	++++
341		374,80	374,90	++++
342	 Quiral	469,82	470,20	++++
343	 Quiral	436,27	437,30	++
345	 Quiral	451,83	452,10	++++
346	 Quiral	401,82 Δ	424,20	++++
347	 Quiral	435,38 Δ	458,00	++++
348	 Quiral	435,38 Δ	458,00	++++

(continuación)

ID	Estructura	PM	EM (Obs)	% de Inhib de IL-1 β a 0,3 o 0,1 μ M
349		435,38 Δ	458,00	++++
350		401,82 Δ	424,00	++++
351		417,39 Δ	440,30	++++
352		401,82 Δ	424,10	++++
353		451,83 Δ	474,10	++++
354		374,80	375,00	++++
355		449,40 Δ	472,40	++++
356		465,86 Δ	488,00	++++
357		408,35	409,10	++++

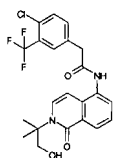
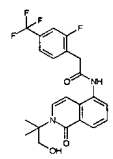
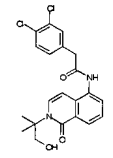
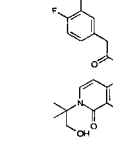
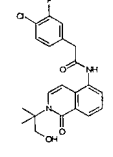
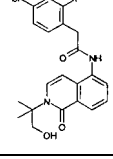
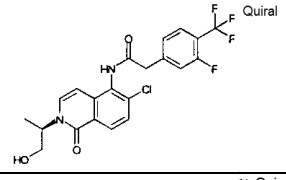
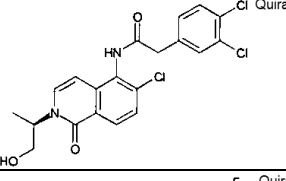
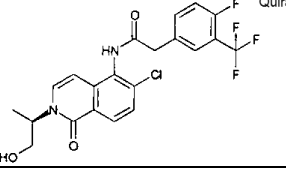
ES 2 569 352 T3

(continuación)

ID	Estructura	PM	EM (Obs)	% de Inhib de IL-1 β a 0,3 o 0,1 μ M
359		422,38	423,20	++++
361		472,38	473,40	++++
362		438,83	439,10	++++
363		418,41	419,40	+++
364		438,83	439,20	++++
365		436,40	437,20	++++
366		486,41	487,20	+
367		436,40	437,20	++++
368		436,40	437,20	++++

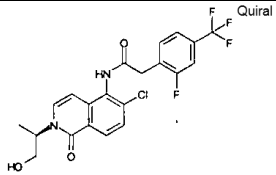
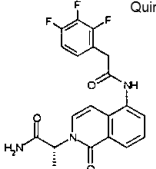
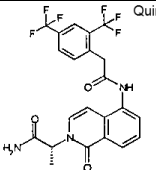
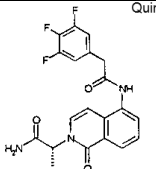
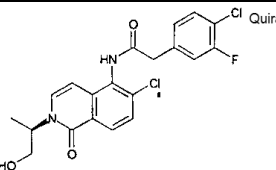
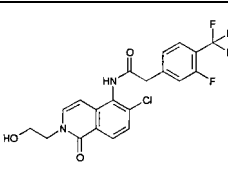
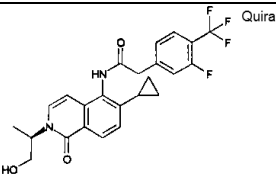
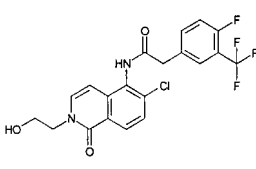
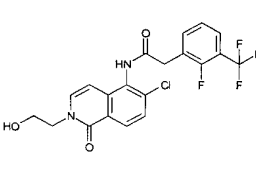
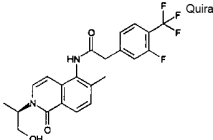
ES 2 569 352 T3

(continuación)

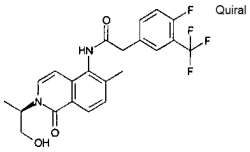
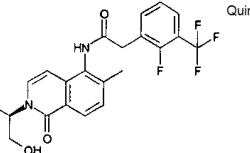
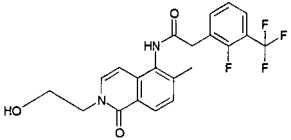
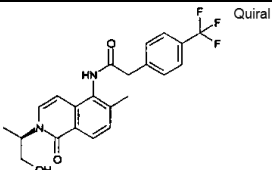
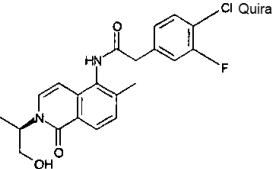
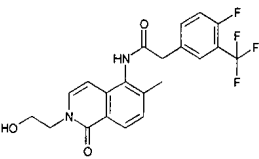
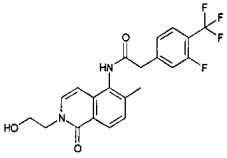
ID	Estructura	PM	EM (Obs)	% de Inhib de IL-1 β a 0,3 o 0,1 μ M
369		452,86	453,20	++++
370		436,40	437,20	++++
371		419,31	419,20	+++
372		402,85	403,20	+
373		402,85	403,20	+++
374		402,85	403,10	++++
375		456,82	457,00	++++
376		439,72	440,40	++++
377		456,82	457,40	++++

ES 2 569 352 T3

(continuación)

ID	Estructura	PM	EM (Obs)	% de Inhib de IL-1 β a 0,3 o 0,1 μ M
378		456,82	457,40	++++
379		403,36	404,10	++++
380		485,38	486,30	++++
381		403,36	404,20	++++
382		423,27	423,30	++++
383		442,79	443,30	++++
384		462,44	463,50	++++
386		442,79	443,30	++++
387		442,79	443,20	++++
393		436,40	437,40	++++

(continuación)

ID	Estructura	PM	EM (Obs)	% de Inhib de IL-1 β a 0,3 o 0,1 μ M
394		436,40	437,50	++++
395		436,40	437,50	++++
396		422,38	423,30	++++
397		418,41	419,40	++++
398		402,85	403,50	++++
399		422,38	423,30	
400		422,38	423,20	++++

Determinaciones de CI_{50}

Los compuestos expuestos en la Tabla 1 se ensayaron para la actividad en un modelo celular como se describe en el presente documento. Específicamente, las células se trataron previamente con diferentes cantidades del compuesto en ensayo y la IL-1 β liberada se determinó como en el Ejemplo 9, anteriormente. Se realizaron mediciones y los valores de IC_{50} , que se presentan en la Tabla 2, a continuación, se determinaron ajustando los datos a una ecuación logística de cuatro parámetros usando el software GraphPad Prism (GraphPad Software, Inc). La ecuación puede expresarse por la siguiente fórmula:

$$Y = \text{Mínimo} + (\text{Máximo} - \text{Mínimo}) / (1 + 10^A ((\text{Log}CE_{50} - X) * \text{Pendiente de Hill}))$$

donde X es el logaritmo de la concentración, Y es la respuesta e Y comienza en el Mínimo y llega al Máximo con una forma sigmoidea.

Tabla 2: CI_{50} de IL-1 β para los Compuestos de Ejemplo

ID	CI_{50} de IL-1 β nM
1	>1000
2	>1000
3	272,40
4	316,90
5	>1000
6	311,30
7	288,90
8	30,27
61	>1000
62	22,21
63	>1000
64	113,00
65	2,21

ID	CI_{50} de IL-1 β nM
66	110,10
67	>1000
68	720,30
69	10,75
70	405,90
71	>1000
72	>1000
73	532,00
74	>1000
75	>1000
76	>1000
77	>1000
78	>1000

ID	CI ₅₀ de IL-1 β nM
79	>1000
80	27,52
81	27,75
82	227,70
228	211,90
229	187,10
230	160,50
231	374,10
233	390,70
234	144,50
235	70,57
236	46,59
237	6,27
238	1,26
239	4,05
240	11,77
241	23,61
247	18,78
248	>1000
249	4,83

ID	CI ₅₀ de IL-1 β nM
250	15,10
251	57,27
252	160,80
253	762,60
254	25,32
255	21,55
256	34,36
258	9,92
259	208,30
260	694,40
261	188,00
262	73,07
263	13,29
264	442,50
265	15,21
266	38,71
267	3,19
268	3,92
269	8,97
270	37,43

ID	Cl ₅₀ de IL-1 β nM
271	60,63
272	>1000
273	3,54
274	14,52
275	19,80
276	53,30
277	81,96
278	57,98
279	105,80
280	121,00
281	7,39
282	33,77
283	9,70
284	6,91
285	6,62
286	373,80
287	332,50
288	>1000
289	53,04
290	7,63

ID	Cl ₅₀ de IL-1 β nM
291	20,60
292	>1000
293	44,43
294	663,00
295	184,30
296	17,93
297	16,62
298	7,91
299	24,77
300	5,96
301	3,57
302	32,15
303	15,51
304	5,84
305	36,28
306	5,07
307	18,51
308	302,40
309	>1000
310	>1000

ID	Cl ₅₀ de IL-1 β nM
311	150,40
312	>1000
313	713,10
315	220,60
316	2,29
317	93,70
318	132,50
319	25,11
320	9,54
321	13,42
322	571,80
323	320,20
324	22,09
325	84,64
326	122,20
327	39,42
328	202,40
329	205,50
330	13,30
331	163,10

ID	Cl ₅₀ de IL-1 β nM
333	1,01
334	202,10
335	9,31
336	49,76
337	9,15
338	48,06
339	10,50
340	18,30
341	52,63
342	7,05
343	395,00
345	112,60
346	66,88
347	31,22
348	20,80
349	48,93
350	13,65
351	35,83
352	32,66
353	29,64

ID	Cl ₅₀ de IL-1 β nM
354	84,16
355	36,93
356	15,50
357	14,64
359	43,09
361	14,30
362	1,14
363	167,00
364	10,49
365	41,13
366	788,50
367	106,00
368	60,27
369	14,97
370	134,00
371	156,90
372	420,90
373	258,40
374	175,30
375	4,65

ID	Cl ₅₀ de IL-1 β nM
376	13,10
377	0,38
378	31,45
379	30,45
380	64,30
381	32,44
382	6,15
383	6,06
384	8,78
386	5,45
387	62,76
393	0,39
394	0,74
395	10,69
396	65,14
397	5,54
398	5,38
400	9,44

Semivida en microsomas hepáticos humanos (MHH)

- 5 Se incubaron compuestos de ensayo ($1^{\circ}\mu\text{m}$) con MgCl_2 3,3 mM y MHH 0,78 mg/ml (HL101) en tampón de fosfato de potasio 100 mM (pH 7,4) a 37 °C en la placa de 96 pocillos de profundidad. La mezcla de reacción se dividió en dos grupos, un grupo no-P450 y uno P450. Solo se añadió NADPH a la mezcla de reacción del grupo P450. Una alícuota de muestras del grupo P450 se recogió en el punto temporal 0, 10, 30 y 60 min, donde el punto temporal 0 min indica el momento en el que se añadió NADPH a la mezcla de reacción del grupo P450. Una alícuota de muestras del grupo no-P450 se recogió en los puntos temporales -10 y 65 min. Las alícuotas recogidas se extrajeron con solución de acetonitrilo que contenía un patrón interno. La proteína precipitada se centrifugó en la centrifuga (2000 rpm, 15 min). La concentración de compuesto en el sobrenadante se midió mediante el sistema CL/EM/EM.
- 10 El valor de semivida se obtuvo representando el logaritmo natural de la razón del área del pico de compuestos/patrón interno frente al tiempo. La pendiente de la línea del mejor ajuste a través de los puntos proporcionó la tasa de metabolismo (k). Esta se convirtió en un valor de semivida usando las siguientes ecuaciones:

$$\text{Semivida} = \ln 2/K$$

Los resultados de los ensayos y los correspondientes valores de $T_{1/2}$ se exponen en la Tabla 3, a continuación.

15 **TABLA 3: T-Semivida en horas para los Compuestos de Ejemplo**

ID	Semivida (h)
4	1,97
8	1,41
62	0,37
65	1,03
81	0,72
236	0,97
238	1,59
247	2,11
250	0,9
254	1,46
256	1,29

ID	Semivida (h)
263	2,31
265	0,97
267	1,28
268	1,36
269	0,93
285	1,24
290	1,64
298	3,35
316	3,25
319	1,22
324	0,7

ID	Semivida (h)
330	1,41
335	0,93
339	0,93
342	1,16
351	2,36
353	1,01
357	1,54
359	1,16
362	0,97
364	3,15

ID	Semivida (h)
369	0,55
375	1,63
376	0,9
377	1,01
382	1,34
383	3,65
386	1,08
393	1,45
394	0,70
400	3,73

Evaluación farmacocinética de los compuestos después de la administración intravenosa y oral en ratas.

Se aclimataron Ratas macho Sprague-Dawley durante al menos 24 horas antes de la iniciación del experimento. Durante el periodo de aclimatación, los animales recibieron comida y agua a discreción. Sin embargo, se retiró la comida, pero no el agua, de las jaulas de los animales al menos 12 horas antes de la iniciación del experimento. Durante las primeras 3 horas de experimentación, los animales recibieron solo agua a discreción. Al menos se ensayaron tres animales cada uno para la dosificación intravenosa y oral. Para la formulación intravenosa, los compuestos se disolvieron (de 0,25 a 1 mg/ml) en una mezcla de sulfóxido de dimetilo al 3 %, PEG 400 al 40 % y el porcentaje restante de Captisol al 40 % en agua (p/v). Se pesaron los animales antes de la dosificación. El peso corporal determinado se usó para calcular el volumen de dosis para cada animal.

$$\text{Volumen de dosis (ml/kg)} = 1 \text{ mg/kg} / \text{concentración de la formulación (mg/ml)}$$

En los casos donde las concentraciones de la formulación eran de menos de 0,5 mg/ml, el volumen de dosificación era de aproximadamente 2 ml/kg.

Para la formulación oral, los compuestos de la presente invención se suspendieron (de 0,5 a 0,75 mg/ml) en una mezcla del 5 % de Tween 80 al 10 % en agua (v/v) y el 95 % de metilcelulosa al 0,5 % en agua (p/v). Las ratas de la vía oral normalmente se dosificaron normalmente a través de una sonda nasogástrica siguiendo la misma fórmula de volumen de dosis que la vía intravenosa para conseguir un nivel de dosis de 1 a 5 mg/kg. Para la dosificación intravenosa, se recogieron muestras de sangre (utilizando una jeringa preheparinizada) a través del catéter de la vena yugular a los 2, 5, 15, 30, 60, 120, 180, 300, 480 y 1440 minutos después de la dosificación. Para la dosificación por vía oral, se recogieron muestras de sangre (utilizando una jeringa preheparinizada) a través del catéter de la vena yugular antes de la dosificación y a los 5, 15, 30, 60, 120, 180, 300, 480 y 1440 minutos después de la dosificación. Se obtuvieron aproximadamente 250 μ l de sangre del animal en cada punto temporal. Se reemplazaron por volúmenes iguales de solución salina normal al 0,9 % para evitar la deshidratación. Las muestras de sangre completa se mantuvieron en hielo hasta la centrifugación. Después, las muestras de sangre se centrifugaron a 14.000 rpm durante 10 minutos a 4 °C y la fase superior de plasma se transfirió a un vial limpio y se almacenó a -80 °C. Las muestras de plasma resultantes se analizaron mediante espectrometría de masas en tándem con cromatografía líquida. Después de la medición de las muestras de plasma y las soluciones de dosificación, se representó la curva concentración-tiempo extrapolada a tiempo infinito (ABC_{inf}). El ABC_{inf} se promedió y se calculó la biodisponibilidad oral (%F) para cada animal como:

$$ABC_{inf} \text{ (vía oral)} / ABC_{inf} \text{ (vía intravenosa)}, \text{ normalizadas a sus respectivos niveles de dosis}$$

La %F puede presentarse como la F % media de todos los animales dosificados por vía oral con el compuesto de la invención en el nivel especificado (véase la Tabla 4 a continuación).

Para los fines de la Tabla 4, la biodisponibilidad oral de cada compuesto se expresa de la siguiente manera:

"+" 0-25 % de F
 "++" 26-50 % de F
 "+++" 51-75 % de F
 "++++" > 75 % de F

5

TABLA 4: Biodisponibilidad oral de los Compuestos de Ejemplo

ID	Biodisponibilidad Oral F (%)
4	++++
8	+
62	+
65	+
81	+
236	+
238	+
247	++
254	+

ID	Biodisponibilidad Oral F (%)
256	+
263	++
265	++
267	++
268	++
269	++
285	++
290	+
298	+

ID	Biodisponibilidad Oral F.(%)
316	++
319	+++
324	++
330	++++
335	++
339	+++
342	+
351	+
353	+
357	++++
359	++++
362	++
364	++++
369	+
375	++++
376	++
377	+++
382	+++
383	++++
386	+
393	+++
394	++
395	++
398	+++
400	++

Determinación de la solubilidad acuosa

5 La solubilidad cinética de un compuesto puede determinarse por adición de compuesto de ensayo 10^omM en solución de DMSO, en 5 a 10 ml de tampón a pH 7,4 y pH 2. La mezcla se agitó con vórtice durante 1 hora y se equilibró durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla se filtró a través de un filtro saturado y el filtrado se analizó mediante CL/EM/EM.

Los resultados de los ensayos y los valores de solubilidad correspondientes se exponen en la Tabla 5, a continuación.

Para los fines de la Tabla 5, la solubilidad de cada compuesto se expresa de la siguiente manera:

"+" solubilidad de 0-25° μ M a pH 7,4
 "++" solubilidad de 26-50° μ M a pH 7,4
 "+++" solubilidad de 51-75° μ M a pH 7,4
 "++++" solubilidad > de 75° μ M a pH 7,4

5

TABLA 5: Solubilidad de los Compuestos de Ejemplo

ID	Solubilidad μ M
7	+
62	+
69	+
80	++++
81	++++
237	++
249	+
250	++++
254	++
256	+
262	++++
263	++++
265	++
266	++++
267	+++
268	+++
269	++
283	++++
284	++++
298	+
300	+
301	++
304	+
306	+
307	+
316	+
320	+++
324	++++
330	++++
333	++++
335	++++
337	+

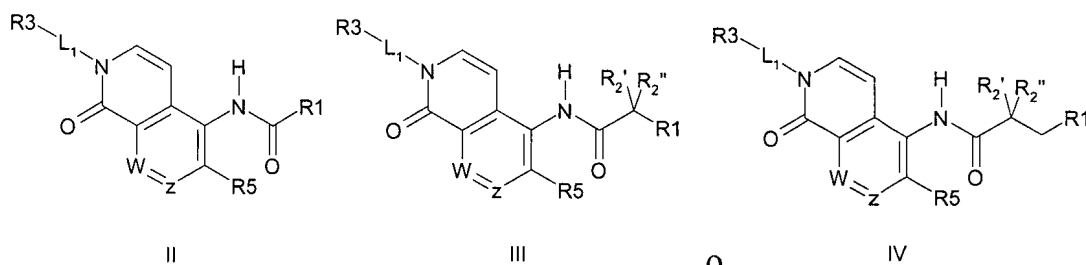
(continuación)

ID	Solubilidad μM
339	++++
351	+
353	+
357	+
359	+
361	++++
375	++++
376	++++
377	++++
383	+
386	+
393	++++
394	++++
395	++++
397	+++
398	++++
400	++++

5 Los nombres químicos de los compuestos de la invención proporcionados en la presente solicitud se generan usando la herramienta de nomenclatura Lexichem de Open Eye Software, Reaction Planner de Symyx Renaissance Software o ISIS Draw Autonom Software tool de MDL, y no han sido verificados.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de bicicloheteroarilo de acuerdo con la fórmula II, III o IV:



en las que

- 5 W y Z son CH;
 L¹ es alquileo C₁-C₅ sustituido o sin sustituir;
 R¹ se selecciona entre arilo y heteroarilo de 5-13 miembros sustituidos o sin sustituir;
 cada R^{2'} y R^{2''} se selecciona independientemente entre hidrógeno, halo, alquilo C₁-C₆ sustituido o sin sustituir; o
 cualquiera de R^{2'} y R^{2''} se unen para formar un anillo cicloalquilo o cicloheteroalquilo de 3-7 átomos;
 10 R³ es hidroxilo, amino, alquilamino o carbamoilo;
 R⁵ es H, Me, ciclopropilo, Cl, F o CF₃;
 o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo;
 y estereoisómeros, variantes isotópicas y tautómeros del mismo.

2. Un compuesto de acuerdo con la Reivindicación 1 en el que cada uno de R^{2'} y R^{2''} es H.

- 15 3. Un compuesto de acuerdo con la Reivindicación 1 en el que R¹ se selecciona entre un arilo o heteroarilo de 5-13 miembros, sin sustituir o sustituidos con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente entre halo, hidroxilo, amino, ciano, sulfo, sulfanilo, sulfinilo, amido, carboxi, carbalcoxi, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido and sulfonamida.

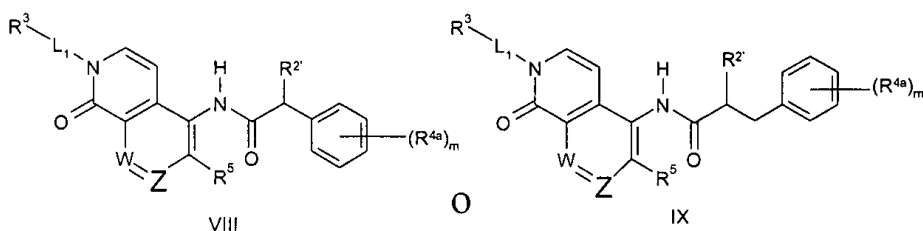
4. Un compuesto de acuerdo con la Reivindicación 1 en el que R¹ es fenilo sustituido o sin sustituir.

- 20 5. Un compuesto de acuerdo con la Reivindicación 1 en el que R¹ es naftilo sustituido o sin sustituir.

6. Un compuesto de acuerdo con la Reivindicación 1 en el que R¹ es heteroarilo sustituido o sin sustituir.

7. Un compuesto de acuerdo con la Reivindicación 1 en el que R¹ es piridilo sustituido o sin sustituir, quinolina sustituida o sin sustituir, benzodioxol sustituido o sin sustituir, benzodioxano sustituido o sin sustituir, benzofurano sustituido o sin sustituir, benzotiofeno sustituido o sin sustituir y benzodioxepina sustituida o sin sustituir.

- 25 8. Un compuesto de acuerdo con la Reivindicación 1 en el que el compuesto es de acuerdo con la fórmula VIII o IX



en las que

- 30 W es CH; Z es CH;
 L¹, R³ y R⁵ son como se han descrito en la Reivindicación 1; R^{2'} es H o Me;
 R^{4a} se selecciona entre hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, acilo, acilo sustituido, acilamino sustituido o sin sustituir, alquilamino sustituido o sin sustituir, alquiltio sustituido o sin sustituir, alcoxi sustituido o sin sustituir, ariloxi, alcoxycarbonilo, alcoxycarbonilo sustituido, alquilarilamino sustituido o sin sustituir, arilalquilo, arilalquilo sustituido, amino, arilo, arilo sustituido, arilalquilo, sulfóxido sustituido o sin sustituir, sulfona sustituida o sin sustituir, sulfanilo sustituido o sin sustituir, aminosulfonilo sustituido o sin sustituir, arilsulfonilo sustituido o sin sustituir, ácido sulfúrico, éster de ácido sulfúrico, dihidroxifosforilo sustituido o sin sustituir, aminodihidroxifosforilo sustituido o sin sustituir, azido, carboxi, carbamoilo sustituido o sin sustituir, ciano, cicloalquilo sustituido o sin sustituir, cicloheteroalquilo sustituido o sin sustituir, dialquilamino sustituido o sin sustituir, halo, heteroariloxi, heteroarilo sustituido o sin sustituir, heteroalquilo sustituido o sin sustituir, hidroxilo, nitro y tio; y m se selecciona

entre 0-5;
o una sal, solvato o profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo;
y estereoisómeros, variantes isotópicas y tautómeros del mismo.

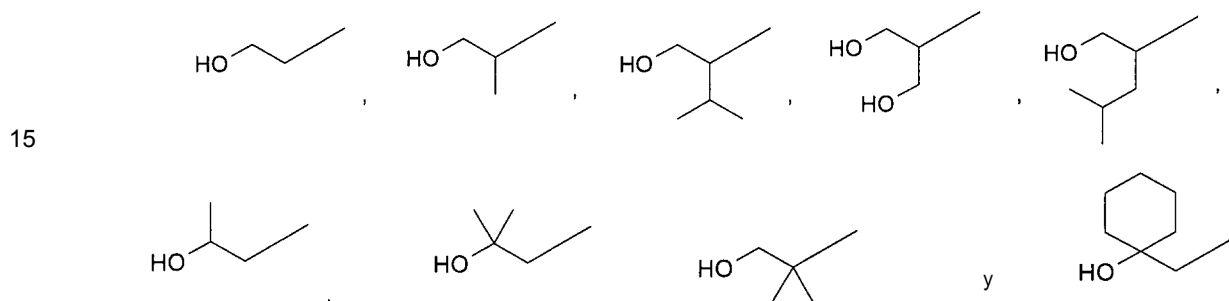
9. Un compuesto de acuerdo con la Reivindicación 8 en el que m es 1, 2 o 3.

5 10. Un compuesto de acuerdo con una de las Reivindicaciones 8 o 9, en el que m es 1 o 2 y cada R^{4a} se selecciona independientemente entre Me, Et, Ph, Cl, F, Br, CN, OH, OMe, OEt, OPh, COPh, CF₃, CHF₂, OCF₃, i-Pr, i-Bu, t-Bu, SMe, CH=CH-CO₂H, SOMe, SO₂Me, SO₃H, SO₃Me y piridilo.

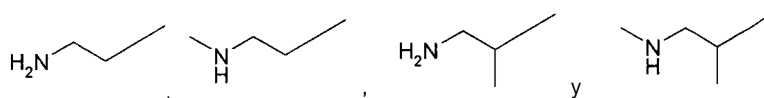
11. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 1-10 en el que L¹ es alquileo C₁-C₅ sin sustituir o sustituido por uno o más sustituyentes seleccionados entre alquilo, oxo, arilo, hidroxilo e hidroxialquilo.

10 12. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 1-10 en el que L¹ es un grupo alquileo C₁-C₅ sustituido con dos grupos alquilo y en el que cualesquiera dos grupos alquilo en el mismo átomo de carbono pueden unirse para formar un anillo cicloalquilo o cicloheteroalquilo de 3-7 átomos.

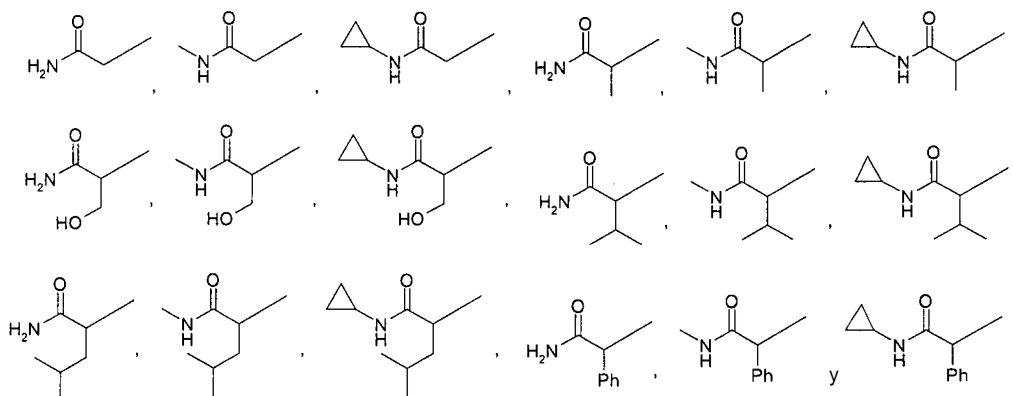
13. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 1-10 en el que el grupo -L₁-R³ se selecciona entre



14. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 1-10 en el que el grupo -L₁-R³ se selecciona entre



20 15. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 1-10 en el que el grupo -L₁-R³ se selecciona entre

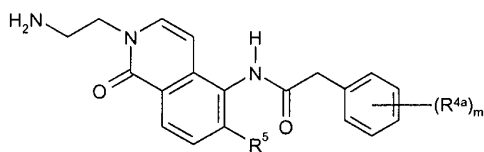


25 16. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 1-15 en el que R²ⁿ es Me.

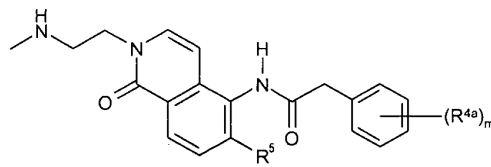
17. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 1-15 en el que R²¹ es H.

18. Un compuesto de la Reivindicación 1 de acuerdo con las fórmulas XIa, XIb, XIc, XI d, XIe, XI f, XIg, XIh, XII o XIj:

21. Un compuesto de la Reivindicación 1 de acuerdo con la fórmula XIIIa o XIIIb:



XIIIa



O

XIIIb

en las que R^{4a} se selecciona independientemente entre hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, acilo, acilo sustituido, acilamino sustituido o sin sustituir, alquilamino sustituido o sin sustituir, alquiltio sustituido o sin sustituir, alcoxi sustituido o sin sustituir, arilo, arilo sustituido, arilalquilo, sulfóxido sustituido o sin sustituir, sulfona sustituida o sin sustituir, sulfanilo sustituido o sin sustituir, aminosulfonilo sustituido o sin sustituir, arilsulfonilo sustituido o sin sustituir, ácido sulfúrico, éster de ácido sulfúrico, dihidroxifosforilo sustituido o sin sustituir, aminodihidroxifosforilo sustituido o sin sustituir, azido, carboxi, carbamoilo sustituido o sin sustituir, ciano, cicloalquilo sustituido o sin sustituir, cicloheteroalquilo sustituido o sin sustituir, dialquilamino sustituido o sin sustituir, halo, heteroarilo, heteroarilo sustituido o sin sustituir, heteroalquilo sustituido o sin sustituir, hidroxilo, nitro y tio; y m se selecciona entre 0-5; y R⁵ es como en la reivindicación 1.

22. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 18-21 en el que m es 1, 2 o 3.

23. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 18-21 en el que m es 1 o 2; y cada R^{4a} se selecciona independientemente entre Me, Et, Ph, Cl, F, Br, CN, OH, OMe, OEt, OPh, CPh, CF₃, CHF₂, OCF₃, i-Pr, i-Bu, t-Bu, SMe, CH=CH-CO₂H, SOMe, SO₂Me, SO₃H, SO₃Me y piridilo.

24. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 8-21 en el que m es 1 y R^{4a} es CF₃.

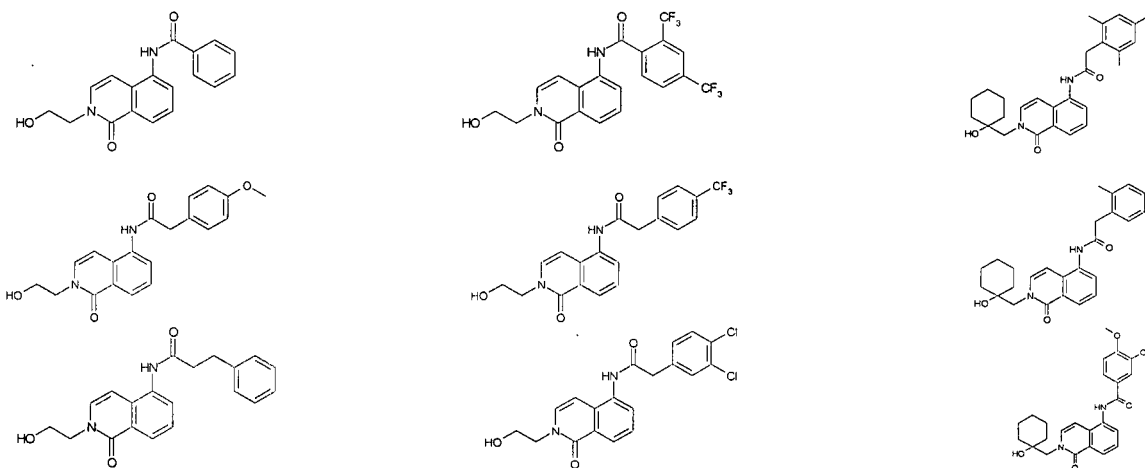
25. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 8-21 en el que m es 2 y R^{4a} es F y CF₃.

26. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 8-21 en el que m es 2 y R^{4a} es F y Cl.

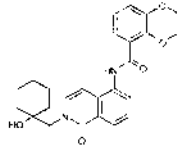
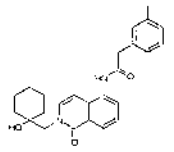
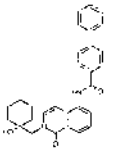
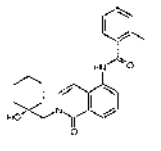
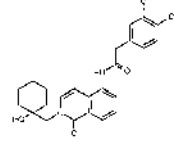
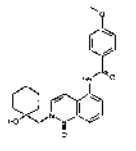
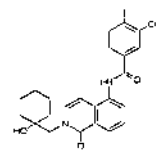
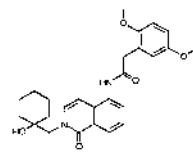
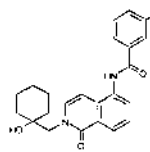
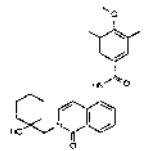
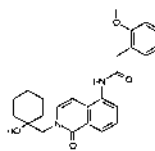
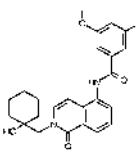
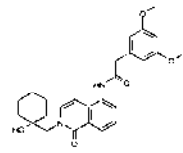
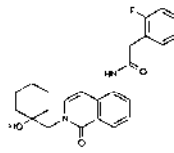
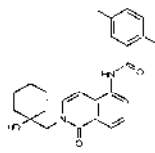
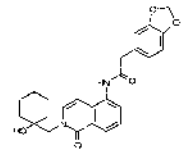
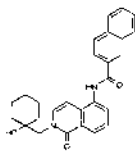
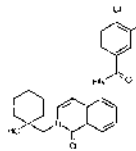
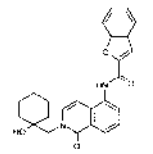
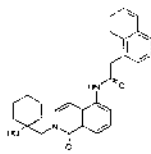
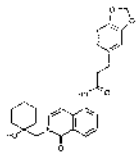
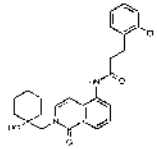
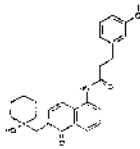
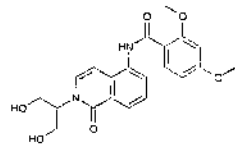
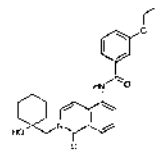
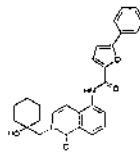
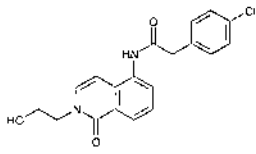
27. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 1-26 en el que R⁵ es H.

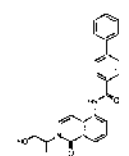
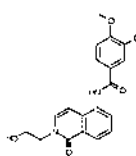
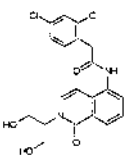
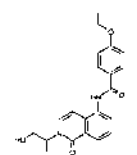
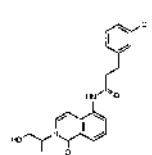
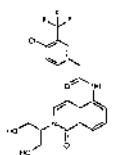
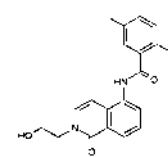
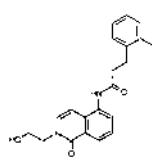
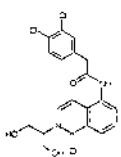
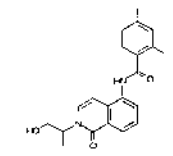
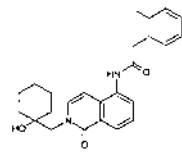
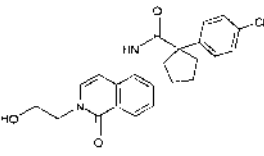
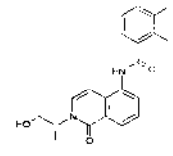
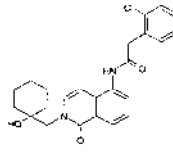
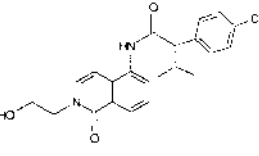
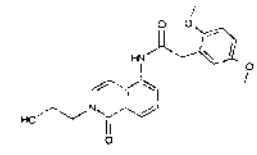
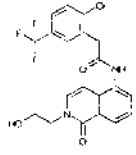
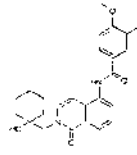
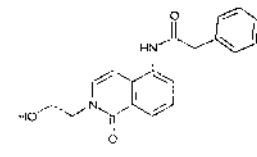
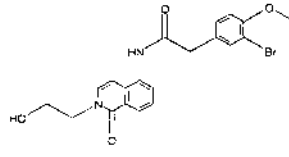
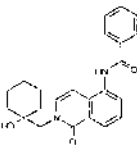
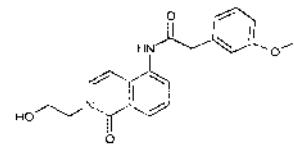
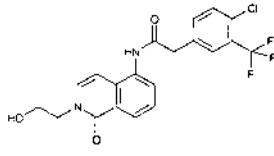
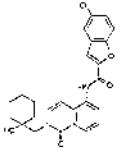
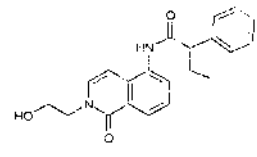
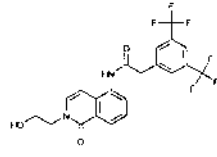
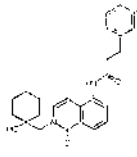
28. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 1-26 en el que R⁵ es Me, ciclopropilo, Cl, F o CF₃.

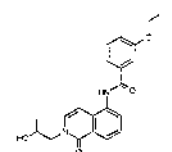
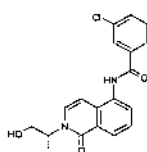
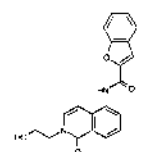
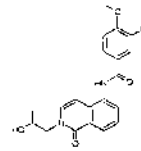
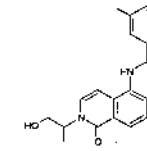
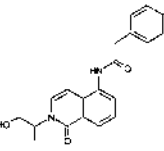
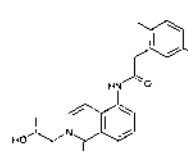
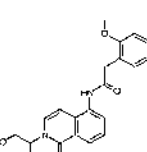
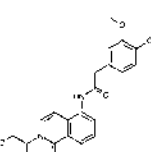
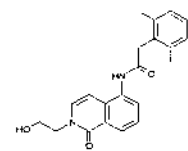
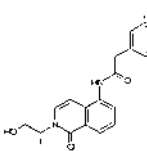
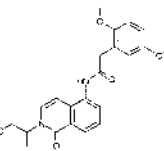
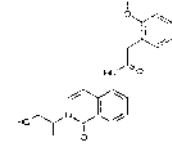
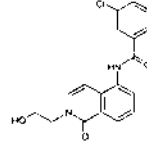
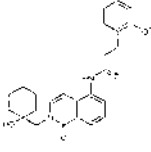
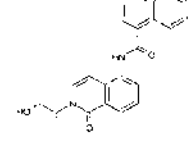
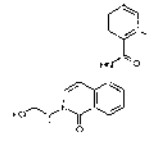
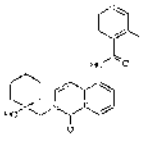
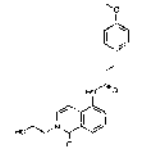
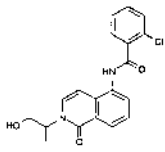
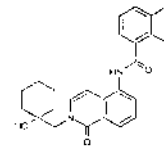
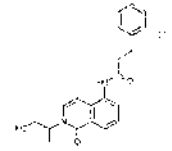
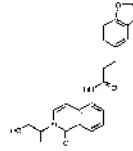
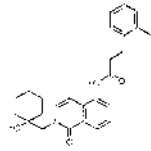
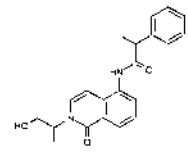
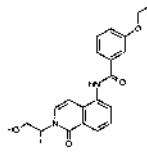
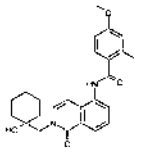
29. Un compuesto de acuerdo con la Reivindicación 1 en el que el compuesto se selecciona entre

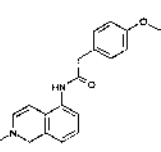
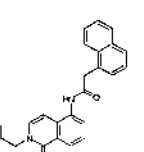
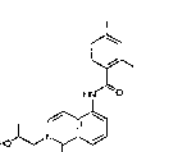
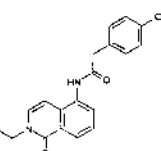
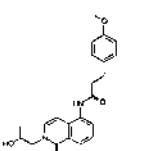
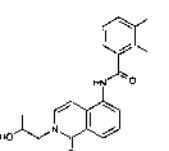
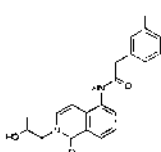
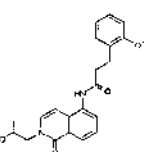
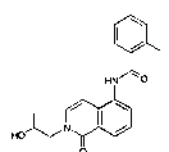
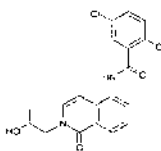
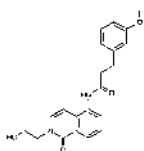
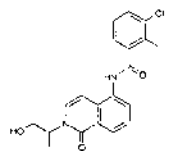
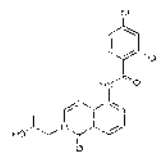
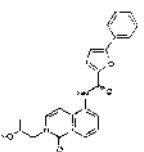
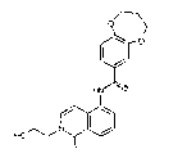
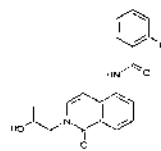
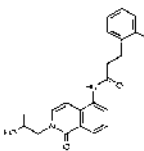
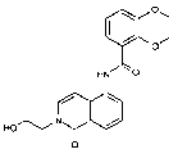
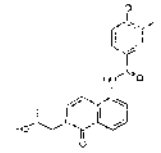
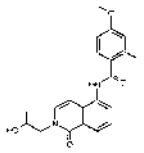
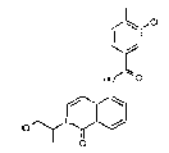
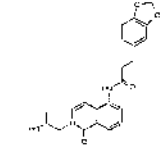
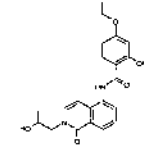
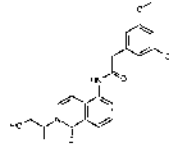
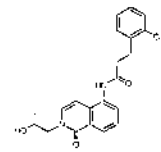
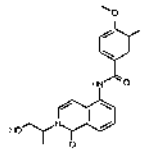
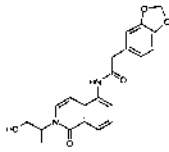


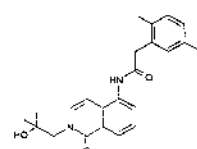
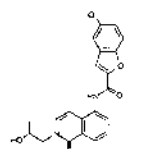
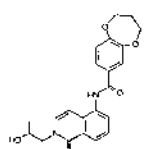
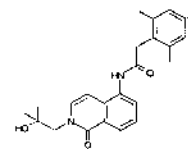
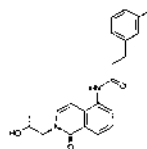
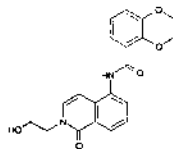
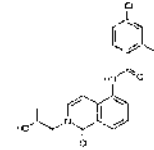
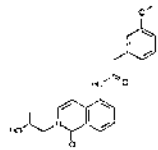
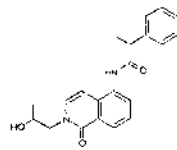
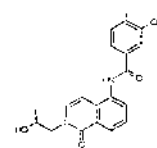
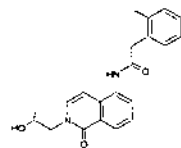
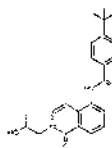
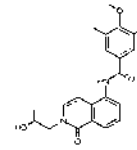
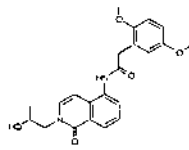
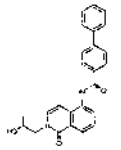
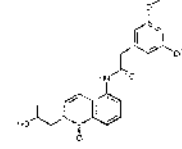
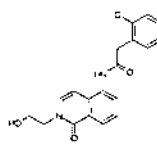
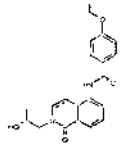
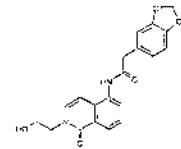
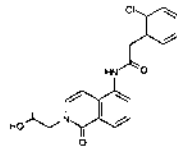
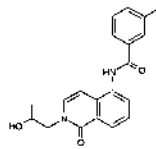
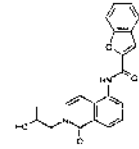
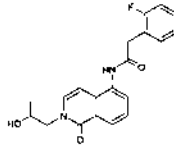
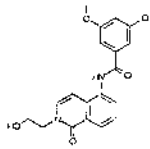
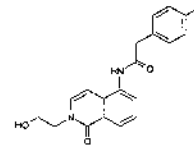
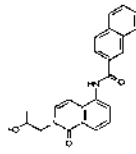
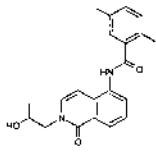
25

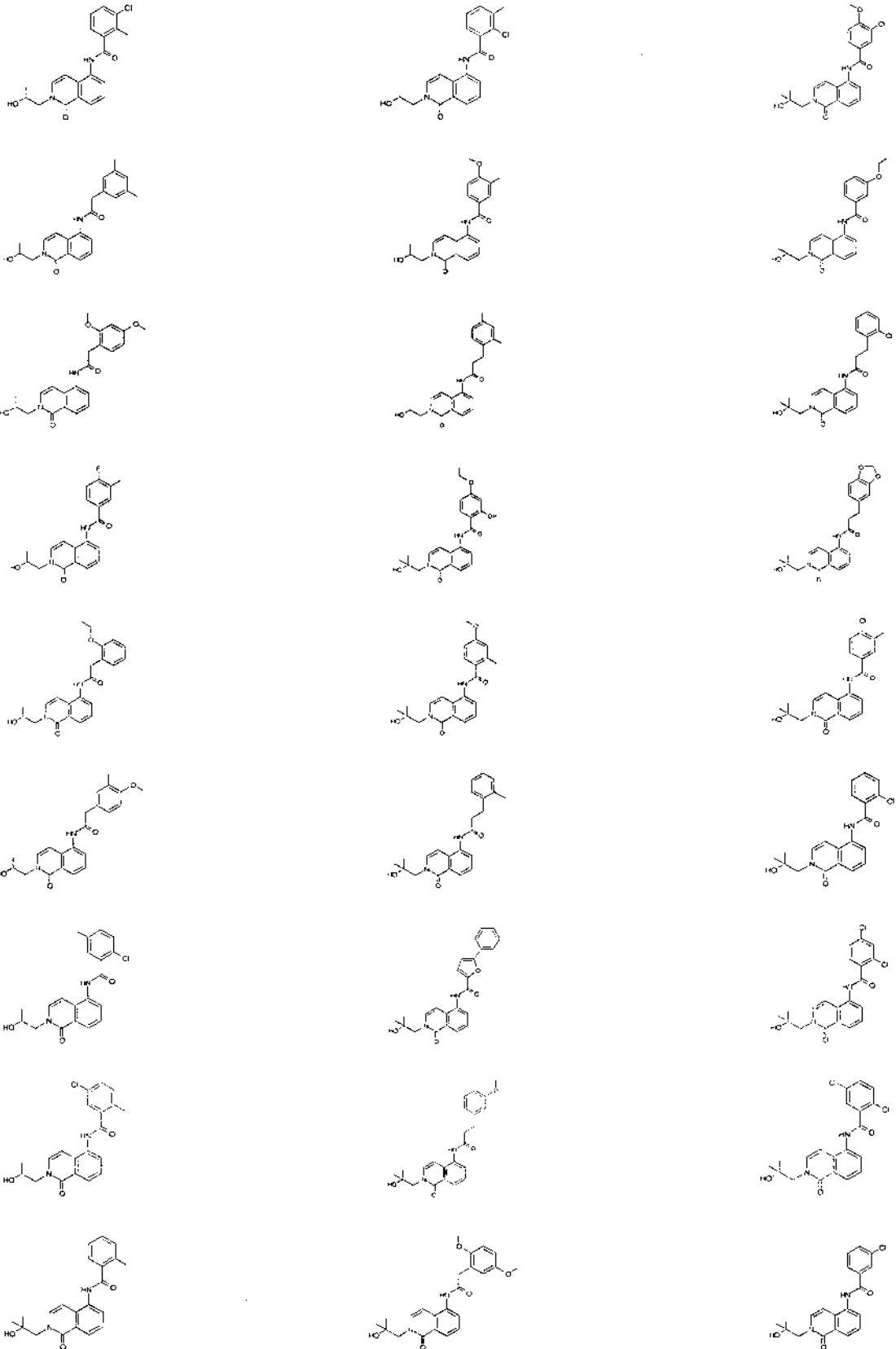


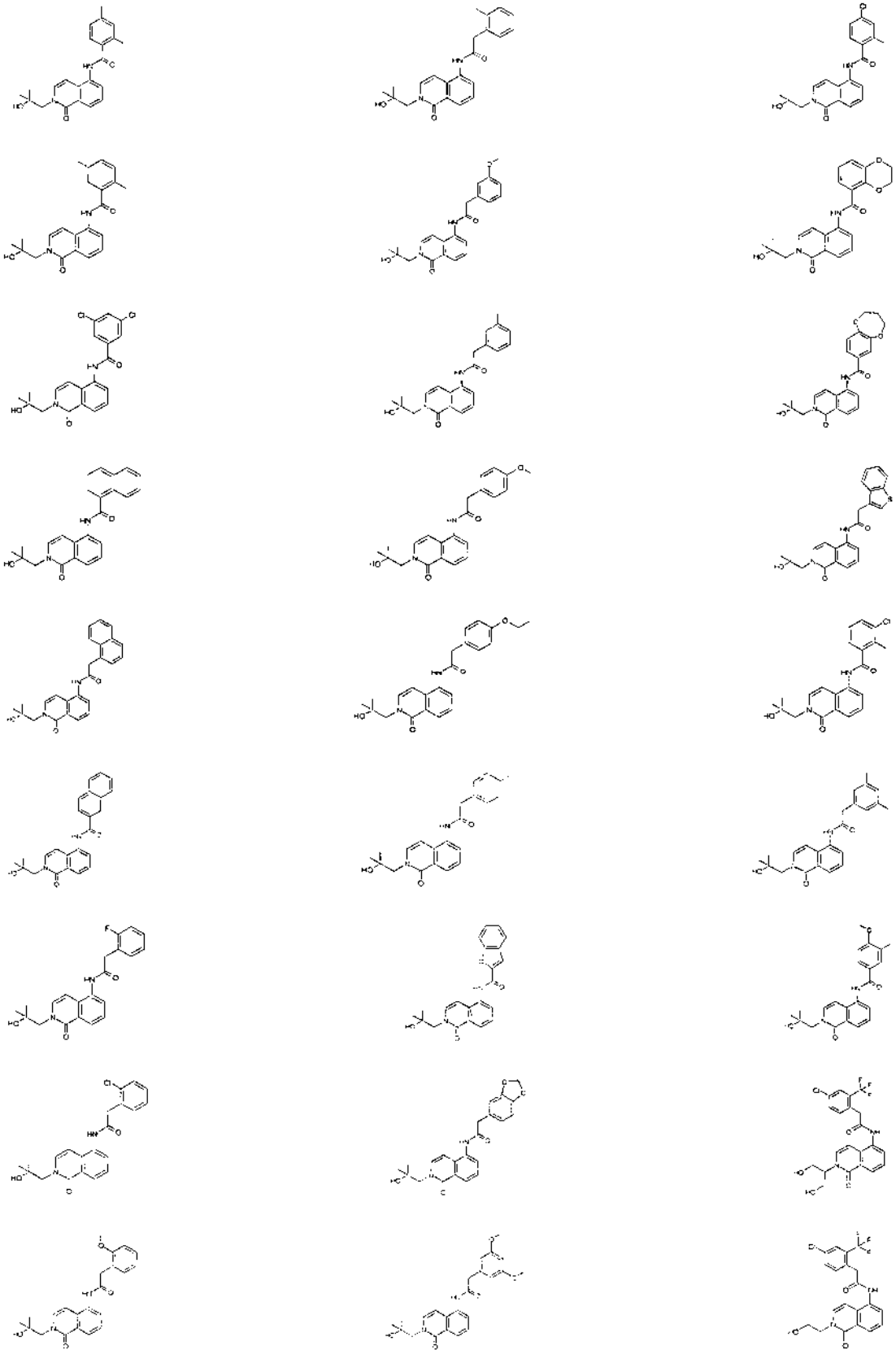


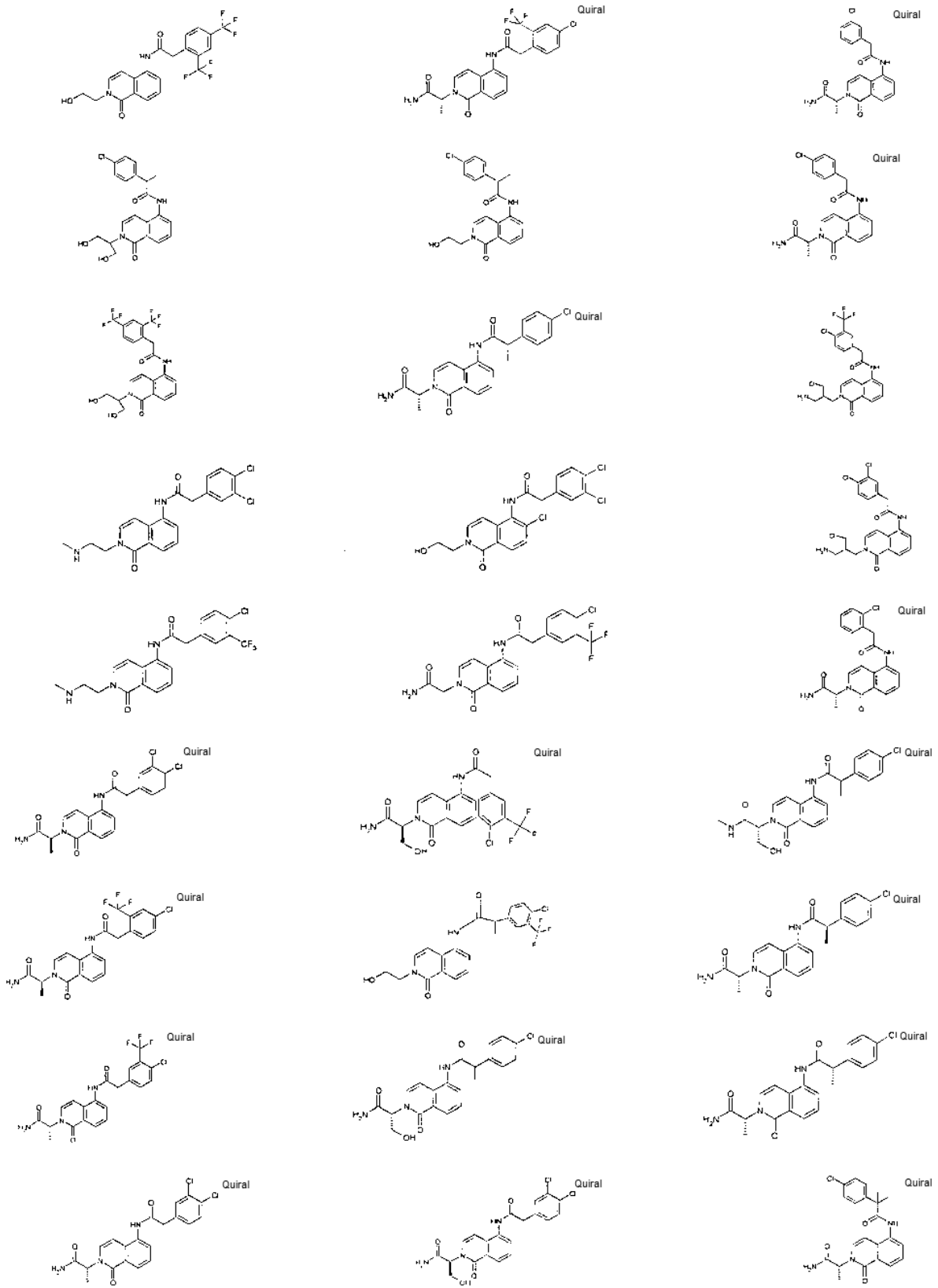


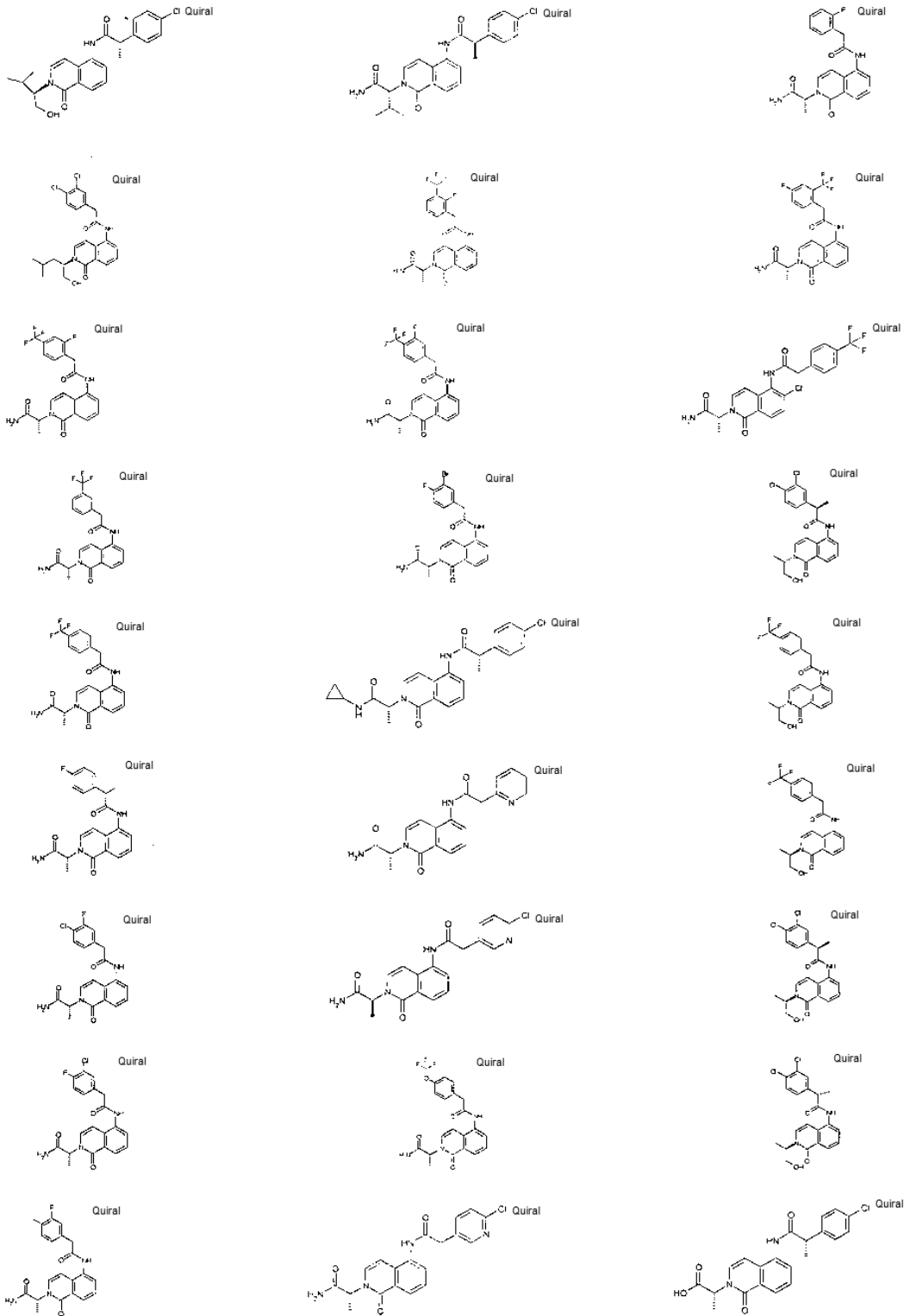


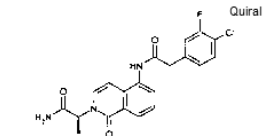
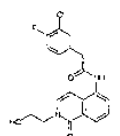
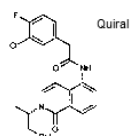
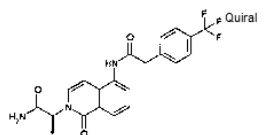
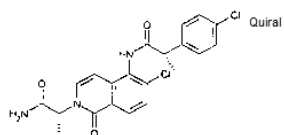
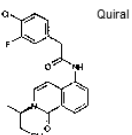
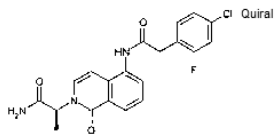
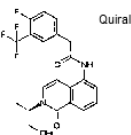
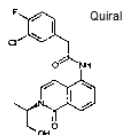
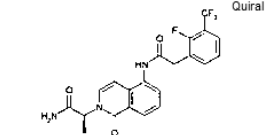
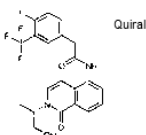
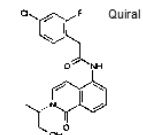
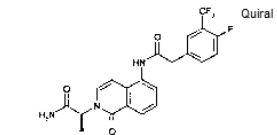
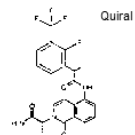
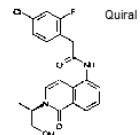
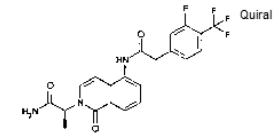
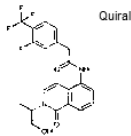
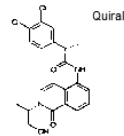
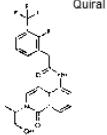
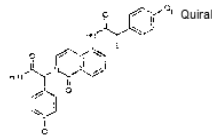
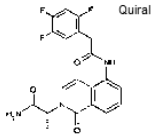
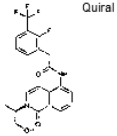
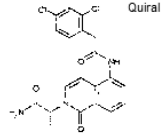
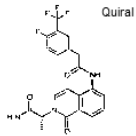
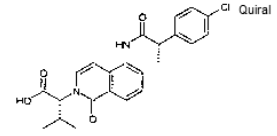
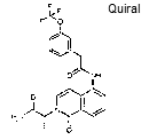
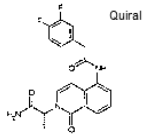


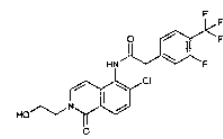
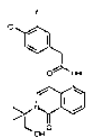
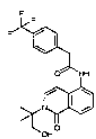
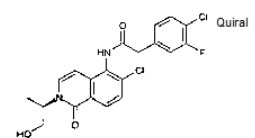
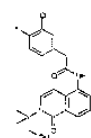
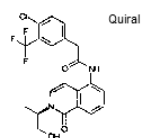
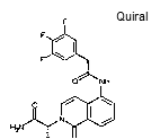
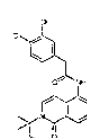
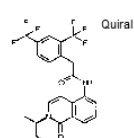
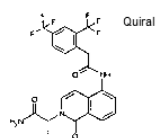
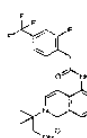
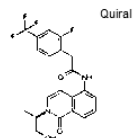
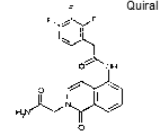
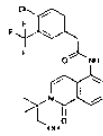
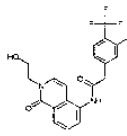
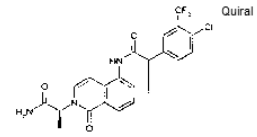
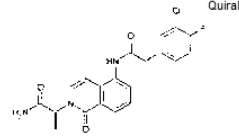
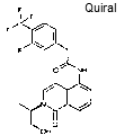
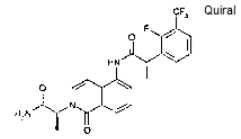
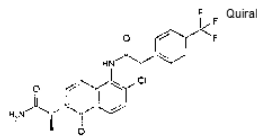
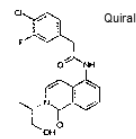
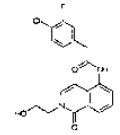
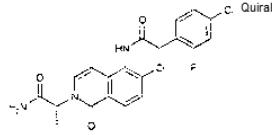
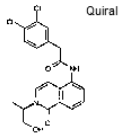
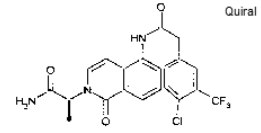
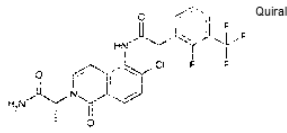
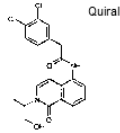


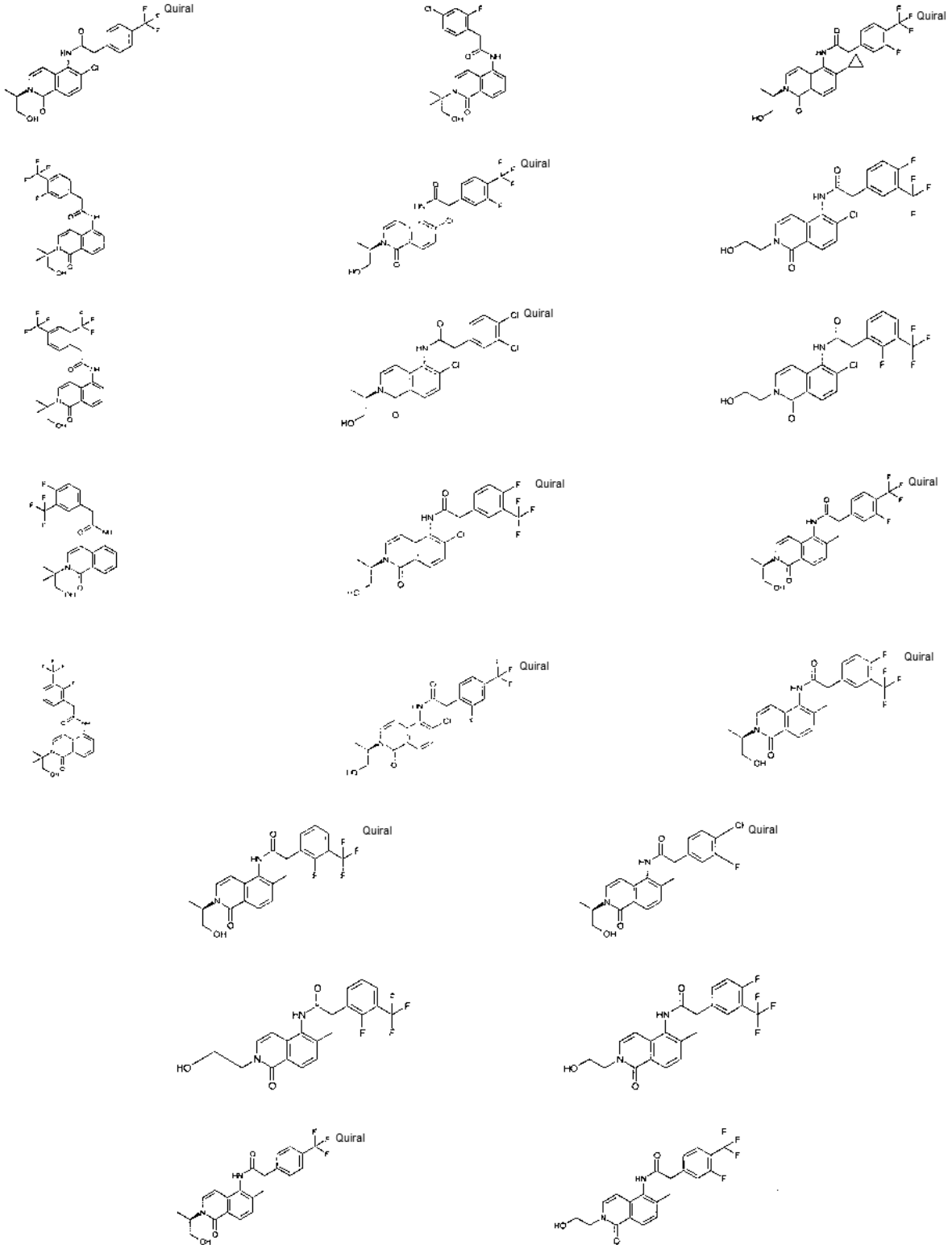












30. Una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto de una cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 29.

5 31. La composición farmacéutica de la Reivindicación 30, en la que el vehículo es un vehículo parenteral, oral o tópico.

32. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 1-29 o una composición de acuerdo con la Reivindicación 30, para su uso en un procedimiento para prevenir, tratar o mejorar en un mamífero una

enfermedad o afección que está causalmente relacionada con la actividad aberrante del receptor P2X₇ *in vivo*.

33. El compuesto o la composición para su uso de acuerdo con la Reivindicación 32, en los que la enfermedad o afección es una afección con dolor.
- 5 34. El compuesto o la composición para su uso de acuerdo con la Reivindicación 32, en los que la enfermedad o afección es una enfermedad o afección inflamatoria.
35. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 1-29, para su uso como un producto farmacéutico.
- 10 36. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 1-29, para su uso como un producto farmacéutico en un procedimiento para el tratamiento o la prevención de una enfermedad o afección seleccionada entre: dolor incluyendo el dolor agudo, inflamatorio y neuropático, dolor crónico, dolor dental y cefalea incluyendo la migraña, la cefalea en racimos y la cefalea tensional, la enfermedad de Parkinson, la esclerosis múltiple; enfermedades y trastornos que dan como resultado o que están mediados por neuroinflamación, lesión cerebral traumática y encefalitis; enfermedades y trastornos neuropsiquiátricos de origen central, manía depresiva, enfermedad bipolar, ansiedad, esquizofrenia, trastornos de la alimentación, trastornos del sueño y trastornos de la cognición; epilepsia y trastornos de ataques; disfunción de próstata, vejiga e intestino, incontinencia urinaria, retardo miccional, hipersensibilidad rectal, incontinencia fecal, hipertrofia prostática benigna y enfermedad inflamatoria intestinal; enfermedades y trastornos respiratorios y de las vías respiratorias, rinitis alérgica, asma y enfermedad de las vías respiratorias reactivas y enfermedad pulmonar obstructiva crónica; enfermedades y trastornos que dan como resultado o que están mediados por inflamación, artritis, artritis reumatoide y osteoartritis, infarto de miocardio, diversas enfermedades y trastornos autoinmunes, uveítis y aterosclerosis; picor/prurito, psoriasis; obesidad; trastornos lipídicos; cáncer; presión sanguínea; lesión medular; y trastornos renales.
- 15 37. El compuesto para el uso de la Reivindicación 36, en el que la enfermedad o afección es la artritis reumatoide.
- 20 38. El compuesto para el uso de la Reivindicación 36, en el que la enfermedad o afección es una lesión cerebral traumática.
- 25 39. El compuesto para el uso de la Reivindicación 36, en el que la enfermedad o afección es la osteoartritis.
40. El compuesto para el uso de la Reivindicación 36, en el que la enfermedad o afección es el dolor.
41. El compuesto para el uso de la Reivindicación 36, en el que la enfermedad o afección es el dolor neuropático.
- 30 42. El compuesto para el uso de la Reivindicación 36, en el que el dolor está asociado a una afección seleccionada entre el grupo que consiste en el síndrome postmastectomía, el dolor de muñón, el dolor del miembro fantasma, el dolor neuropático oral, el dolor de Charcot, la odontalgia, la mordedura de serpiente venenosa, la mordedura de araña, la picadura de insecto, la neuralgia postherpética, la neuropatía diabética, la distrofia del reflejo simpático, la neuralgia del trigémino, la osteoartritis, la artritis reumatoide, la fibromialgia, el síndrome de Guillain-Barre, la meralgia parestésica, el síndrome de la boca ardiente, la neuropatía periférica bilateral, la causalgia, la neuritis ciática, la neuritis periférica, la polineuritis, la neuritis segmentaria, la neuritis de Gombault, la neuronitis, la neuralgia cervicobraquial, las neuralgias craneales, la neuralgia geniculata, la neuralgia glossofaríngea, la neuralgia migrañosa, la neuralgia idiopática, la neuralgia de los intercostales, la neuralgia mamaria, la neuralgia de la articulación mandibular, la neuralgia de Morton, la neuralgia nasociliar, la neuralgia occipital, la neuralgia roja, la neuralgia de Sluder, la neuralgia esplenopalatina, la neuralgia supraorbital, la neuralgia de Vidian, la cefalea de la cavidad nasal, la cefalea tensional, el trabajo de parto, el parto, el gas intestinal, la menstruación, el cáncer y el traumatismo.
- 35 43. Uso de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las Reivindicaciones 1-29, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de una enfermedad o afección seleccionada entre: dolor incluyendo el dolor agudo, inflamatorio y neuropático, dolor crónico, dolor dental y cefalea incluyendo la migraña, la cefalea en racimos y la cefalea tensional, la enfermedad de Parkinson y la esclerosis múltiple; enfermedades y trastornos que dan como resultado o que están mediados por neuroinflamación, lesión cerebral traumática y encefalitis; enfermedades y trastornos neuropsiquiátricos de origen central, manía depresiva, enfermedad bipolar, ansiedad, esquizofrenia, trastornos de la alimentación, trastornos del sueño y trastornos de la cognición; disfunción de próstata, vejiga e intestino, incontinencia urinaria, retardo miccional, hipersensibilidad rectal, incontinencia fecal, hipertrofia prostática benigna y enfermedad inflamatoria intestinal; enfermedades y trastornos respiratorios y de las vías respiratorias, rinitis alérgica, asma y enfermedad de las vías respiratorias reactivas y enfermedad pulmonar obstructiva crónica; enfermedades y trastornos que dan como resultado o que están mediados por inflamación, artritis, artritis reumatoide y osteoartritis, infarto de miocardio, diversas enfermedades y trastornos autoinmunes, uveítis y aterosclerosis; picor/prurito, psoriasis; obesidad; trastornos lipídicos; cáncer; presión sanguínea; lesión medular; afecciones que dan como resultado o que están relacionadas con la disfunción inmunitaria; y trastornos renales.
- 40 45 50