

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 899 281**

51 Int. Cl.:

C07D 213/81 (2006.01)

C07D 401/06 (2006.01)

C07D 413/12 (2006.01)

C07D 417/12 (2006.01)

A61K 31/4436 (2006.01)

A61P 37/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.02.2018** **PCT/EP2018/054730**

87 Fecha y número de publicación internacional: **07.09.2018** **WO18158210**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.02.2018** **E 18712081 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.11.2021** **EP 3589615**

54 Título: **Derivados de piridilo como inhibidores de bromodominios**

30 Prioridad:

01.03.2017 GB 201703282

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

10.03.2022

73 Titular/es:

**GLAXOSMITHKLINE INTELLECTUAL PROPERTY
(NO. 2) LIMITED (100.0%)
980 Great West Road
Brentford, Middlesex TW8 9GS, GB**

72 Inventor/es:

**ATKINSON, STEPHEN JOHN;
DEMONT, EMMANUEL HUBERT;
HARRISON, LEE ANDREW;
LEVERNIER, ETIENNE;
PRESTON, ALEXANDER G;
SEAL, JONATHAN, THOMAS;
WALL, IAN DAVID;
WATSON, ROBERT J y
WOOLVEN, JAMES MICHAEL**

74 Agente/Representante:

ARIZTI ACHA, Monica

ES 2 899 281 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

Derivados de piridilo como inhibidores de bromodominios

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a derivados de piridilo que son inhibidores de bromodominios, a composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos y los compuestos para su uso en el tratamiento de diversas enfermedades o afecciones, por ejemplo, afecciones autoinmunitarias y/o inflamatorias agudas o crónicas, infecciones víricas y cáncer.

Antecedentes de la invención

Los genomas de los organismos eucariotas están altamente organizados dentro del núcleo de la célula. Las cadenas largas de ADN dúplex se envuelven alrededor de un octámero de proteínas histonas (que por lo general comprende dos copias de histonas H2A, H2B, H3 y H4) para formar un nucleosoma. Esta unidad básica se comprime después adicionalmente mediante la agregación y el plegamiento de nucleosomas para formar una estructura de cromatina altamente condensada. Es posible una gama de estados diferentes de condensación y la firmeza de esta estructura varía durante el ciclo celular, siendo más compacta durante el proceso de división celular. La estructura de la cromatina desempeña un papel crítico en la regulación de la transcripción génica, que no puede producirse eficazmente a partir de la cromatina altamente condensada. La estructura de la cromatina está controlada por una serie de modificaciones postraduccionales en las proteínas histona, principalmente las histonas H3 y H4 y mucho más habitualmente en las colas de las histonas que se prolongan más allá de la estructura central del nucleosoma. Estas modificaciones incluyen la acetilación, metilación, fosforilación, ubiquitinilación y SUMOilación. Estas marcas epigenéticas son escritas y borradas por enzimas específicas, que colocan los marcadores en restos específicos dentro de la cola de la histona, formando de este modo un código epigenético, que después es interpretado por la célula para permitir la regulación específica de la estructura de la cromatina y, por lo tanto, de la transcripción.

La acetilación de histonas se asocia más por lo general a la activación de la transcripción génica, ya que la modificación relaja la interacción del ADN y el octámero de histonas cambiando la electrostática. Además de este cambio físico, proteínas específicas reconocen y se unen a restos de lisina acetilados dentro de las histonas para leer el código epigenético. Los bromodominios son dominios definidos pequeños (~110 aminoácidos) dentro de proteínas que se unen a restos de lisina acetilados habitualmente, pero no exclusivamente, en el contexto de las histonas. Existe una familia de aproximadamente 50 proteínas que se sabe que contienen bromodominios y tienen una serie de funciones dentro de la célula.

La familia BET de proteínas que contienen bromodominios comprende 4 proteínas (BRD2, BRD3, BRD4 y BRDT) que contienen bromodominios en tándem capaces de unirse a dos restos de lisina acetilados en proximidad estrecha, lo que aumenta la especificidad de la interacción. Numerados desde el extremo N-terminal de cada proteína BET, los bromodominios en tándem normalmente se denominan Dominio de Unión 1 (BD1, por sus siglas en inglés) y Dominio de Unión 2 (BD2) (Chung *et al.*, J Med. Chem., 2011, 54, 3827-3838).

Chan *et al.* publican que la inhibición del bromodominio BET suprime las respuestas transcripcionales a la señalización citocina-Jak-STAT de una manera específica de gen en monocitos humanos, lo que sugiere que la inhibición de BET reduce la inflamación parcialmente a través de la supresión de la actividad de las citocinas. (Chan *et al.*, Eur. J. Immunol., 2015, 45: 287-297).

Klein *et al.* publican que el inhibidor de proteína de bromodominio I-BET151 suprime la expresión de genes inflamatorios y de enzimas degradadoras de la matriz en fibroblastos sinoviales de artritis reumatoide, lo que sugiere un potencial terapéutico en el direccionamiento de proteínas lectoras epigenéticas en la artritis reumatoide. (Klein *et al.*, Ann. Rheum. Dis., 2014, 0:1-8).

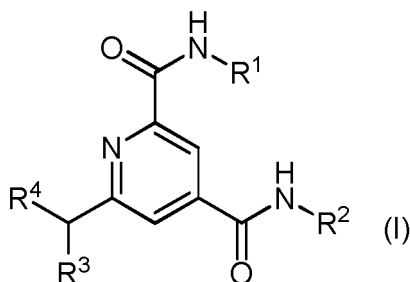
Park-Min *et al.* publican que I-BET151 que se dirige a las proteínas de bromo y extraterminales (BET) que "leen" los estados de la cromatina mediante la unión a histonas acetiladas, suprime fuertemente la osteoclastogénesis. (Park-Min *et al.* Nature Communications, 2014, 5, 5418).

Las solicitudes de Patente PCT PCT/EP2016/070519, PCT/EP2016/072216 y PCT/EP2016/073532 describen, cada una, una serie de derivados de piridona como inhibidores de bromodominios.

El Dr. D Gallenkamp *et al.*, "Bromodomains and Their Pharmacological Inhibitors", ChemMedChem, 4 de febrero de 2014, vol. 9, n.º 3, ISSN 1860-7179, páginas 438 - 464, desvela una visión general de los inhibidores de bromodominios BET. Jean Marc Garnier *et al.*, "BET bromodomain inhibitors: a patent review", Expert Opinion on Therapeutic Patents, vol. 24, n.º 2, desvela inhibidores de BET.

Sumario de la invención

La invención se refiere a compuestos de fórmula (I)



o una sal de los mismos
en donde:

- R¹ es -alquilo o ciclopropilo C₁₋₃;
R² es H, -CH₃, alquilo C₂₋₆ opcionalmente sustituido con uno, dos, tres, cuatro o cinco fluoro, -alquil C₂₋₆OR⁷, -alquil C₂₋₆NR⁷R⁸, -(CH₂)_mSO₂alquilo C₁₋₃, -(CH₂)_mC(O)NR⁷R⁸, -(CH₂)_mCN, -(CH₂)_mCO₂R⁷, -(CH₂)_mNHCO₂C(CH₃)₃; o R² es -(CH₂)_nheteroarilo C₅₋₆ en donde el heteroarilo C₅₋₆ está opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente entre halo, -alquilo C₁₋₄, -cicloalquilo C₃₋₄ y -alquil C₀₋₄OR⁵;
R³ es H, -alquilo C₁₋₄, ciclopropilo, fluoro, cloro, -CH₂F, -alquil C₀₋₃OR⁵ o -alquil C₀₋₃CN;
R⁴ es fenilo o un grupo heteroarilo en donde cada uno está opcionalmente sustituido con uno, dos o tres grupos R⁶ que pueden ser iguales o diferentes;
R⁵ es H o -alquilo C₁₋₃;
cada R⁶ es independientemente halo, -alquilo C₁₋₄, -alquil C₀₋₃OR⁷, -alquil C₀₋₃NR⁹R¹⁰, -alquil C₀₋₃-CONR⁹R¹⁰, -CN, oxo, -SO₂-alquilo C₁₋₃ o -SO₂NR⁹R¹⁰;
R⁷ y R⁸ se seleccionan cada uno independientemente entre -H, -alquilo C₁₋₃ y -alquil C₂₋₄O-alquilo C₀₋₃;
R⁹ y R¹⁰ se seleccionan cada uno independientemente entre -H y -alquilo C₁₋₃; o R⁹ y R¹⁰ pueden unirse junto con el nitrógeno al que están unidos, para formar un heterociclilo de 4 a 7 miembros opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente entre -alquilo C₁₋₃ opcionalmente sustituido con hasta 3 átomos de flúor, -alquil C₂₋₄OH, -OH y F;
m es un número entero seleccionado entre 2, 3 o 4; y
n es un número entero seleccionado entre 0, 1, 2, 3 o 4.

Los compuestos de la invención han demostrado ser inhibidores de bromodominios, en particular, selectivos para BD2, y pueden ser útiles en el tratamiento de diversas enfermedades o afecciones, por ejemplo, afecciones autoinmunitarias y/o inflamatorias agudas o crónicas, por ejemplo, la artritis reumatoide y el cáncer. En consecuencia, la invención se refiere además a composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. La invención se refiere aún más a un compuesto de fórmula (I) o a una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en terapia, por ejemplo, en el tratamiento del cáncer o de una enfermedad autoinmunitaria y/o inflamatoria aguda o crónica.

Descripción detallada de la invención

Los compuestos de fórmula (I) y las sales de los mismos se denominan en el presente documento "compuestos de la invención".

"BD2" se refiere al Dominio de Unión 2 de cualquiera de las proteínas de la familia BET, BRD2, BRD3, BRD4 o BRDT.

"Alquilo" se refiere a una cadena hidrocarbonada saturada que tiene el número especificado de átomos de carbono. Por ejemplo, la expresión "alquilo C₁₋₃" o "alquilo C₁₋₄", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo lineal o ramificado que tiene de 1 a 3 átomos de carbono o de 1 a 4 átomos de carbono respectivamente. Además, la expresión "alquilo C₀₋₃" se refiere a un grupo alquilo lineal o ramificado que tiene de 0 (es decir, un enlace) a 3 átomos de carbono. Los grupos alquilo ramificados representativos tienen una, dos o tres ramas. Un grupo alquilo puede formar parte de una cadena, por ejemplo, -alquil C₀₋₃OR⁵ se refiere a una cadena de alquilo lineal o ramificado que tiene de 0 (es decir, un enlace) a 3 átomos de carbono unida a un grupo R⁵. "Alquilo" incluye, pero sin limitación, metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, isobutilo, t-butilo, pentilo y hexilo.

"Halo" se refiere a un radical halógeno, por ejemplo, fluoro, cloro, bromo o yodo.

"Heteroarilo" se refiere a un grupo monocíclico o bicíclico que tiene 5, 6, 8, 9, 10 u 11 átomos miembros, incluyendo 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, azufre y oxígeno, en donde al menos una porción del grupo es aromática. El punto de unión al resto de la molécula puede ser por cualquier átomo de carbono

o nitrógeno adecuado. Los ejemplos de grupos "heteroarilo" incluyen, pero sin limitación, furanilo, tienilo, pirrolilo, imidazolilo, pirazolilo, triazolilo, tetrazolilo, tiazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, oxadiazolilo, tiadiazolilo, isotiazolilo, piridinilo, piridazinilo, pirazinilo, pirimidinilo, triazinilo, benzofuranilo, isobenzofurilo, 2,3-dihidrobenzofurilo, 1,3-benzodioxolilo, dihidrobenzodioxinilo, benzotienilo, benzazepinilo, 2,3,4,5-tetrahidro-1H-benzo[d]azepinilo, indolizínilo, indolilo, indolinilo, isoindolilo, dihidroindolilo, bencimidazolilo, dihidrobenzoimidazolilo, benzoxazolilo, dihidrobenzoxazolilo, benzotiazolilo, benzoisotiazolilo, dihidrobenzoisotiazolilo, indazolilo, imidazopiridinilo, pirazolopiridinilo, pirrolopiridinilo, benzotriazolilo, triazolopiridinilo, purinilo, quinolinilo, tetrahidroquinolinilo, isoquinolinilo, tetrahidroisoquinolinilo, quinoxalinilo, cinolinilo, ftalazinilo, quinazolinilo, 1,5-naftiridinilo, 1,6-naftiridinilo, 1,7-naftiridinilo, 1,8-naftiridinilo y pteridinilo.

"Heteroarilo C₅₋₆" se refiere a un grupo aromático monocíclico que tiene 5 o 6 átomos miembros, incluyendo 1, 2, 3 o 4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, azufre y oxígeno. El punto de unión al resto de la molécula puede ser por cualquier átomo de carbono o nitrógeno adecuado. Los ejemplos de grupos "heteroarilo C₅₋₆" incluyen, pero sin limitación, furanilo, tienilo, pirrolilo, triazolilo, tiazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, oxadiazolilo, imidazolilo, pirazolilo, triazolilo, tetrazolilo, isoxazolilo, piridinilo, piridazinilo, pirazinilo y pirimidinilo.

"Heteroátomo" se refiere a un átomo de nitrógeno, azufre u oxígeno.

"Heterociclilo de 4 a 7 miembros" se refiere a un sistema anular heterocíclico no aromático que contiene 4, 5, 6 o 7 átomos miembros en el anillo, que incluye un heteroátomo y que contiene opcionalmente un heteroátomo adicional seleccionado entre nitrógeno, oxígeno o azufre. Los ejemplos de grupos "heterociclilo de 4 a 7 miembros" incluyen, pero sin limitación, azetidínilo, pirrolidinilo, piperidinilo, piperazinilo y morfolinilo.

"Átomos miembros" se refiere al átomo o átomos que forman una cadena o anillo. Cuando hay presente más de un átomo miembro en una cadena y dentro de un anillo, cada átomo miembro está unido covalentemente a un átomo miembro adyacente en la cadena o anillo. Los átomos que componen un grupo sustituyente unido a una cadena o anillo no son átomos miembros de la cadena o anillo.

"Sustituido" en referencia a un grupo indica que se reemplaza un átomo de hidrógeno unido a un átomo miembro dentro de un grupo. Debe entenderse que el término "sustituido" incluye la disposición implícita de que dicha sustitución se realiza de acuerdo con la valencia permitida del átomo sustituido y el sustituyente y que la sustitución da como resultado un compuesto estable (es decir, uno que no experimente una transformación espontánea tal como un reordenamiento, ciclación o eliminación). En determinadas realizaciones, un único átomo puede estar sustituido con más de un sustituyente siempre que dicha sustitución se realice de acuerdo con la valencia permitida del átomo. En el presente documento se definen sustituyentes adecuados para cada grupo sustituido u opcionalmente sustituido.

"Farmacéuticamente aceptable" se refiere a aquellos compuestos, materiales, composiciones y formas farmacéuticas que son, dentro del alcance del buen criterio médico, adecuados para su uso en contacto con los tejidos de los seres humanos y los animales sin toxicidad excesiva, irritación u otros problemas o complicaciones, en consonancia con una relación beneficio/riesgo razonable.

"Excipiente farmacéuticamente aceptable" se refiere a un material, composición o vehículo farmacéuticamente aceptable implicado en dar forma o consistencia a la composición farmacéutica. Cada excipiente debe ser compatible con los demás ingredientes de la composición farmacéutica cuando se mezclen, de manera que se eviten interacciones que reduzcan sustancialmente la eficacia del compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo cuando se administre a un paciente. Además, cada excipiente debe ser, por supuesto, farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, de una pureza suficientemente elevada.

"rac" se refiere a la mezcla racémica de los compuestos de fórmula (I).

Los compuestos de la invención pueden existir en forma sólida o líquida. En estado sólido, los compuestos de la invención pueden existir en forma cristalina o no cristalina, o como una mezcla de las mismas. Para los compuestos de la invención que están en forma cristalina, el experto en la materia apreciará que pueden formarse solvatos farmacéuticamente aceptables en donde se incorporan moléculas de disolvente en la red cristalina durante la cristalización. Los solvatos pueden implicar disolventes no acuosos, tales como etanol, alcohol *iso*-propílico, dimetilsulfóxido (DMSO), ácido acético, etanolamina y acetato de etilo, o pueden implicar agua como disolvente que se incorpora en la red cristalina. Los solvatos en donde el agua es el disolvente que se incorpora en la red cristalina normalmente se denominan "hidratos". Los hidratos incluyen hidratos estequiométricos, así como composiciones que contienen cantidades variables de agua. La invención no incluye dichos solvatos.

Se apreciará además que determinados compuestos de la invención que existen en forma cristalina pueden presentar polimorfismo (es decir, la capacidad de presentarse en estructuras cristalinas diferentes). Estas formas cristalinas diferentes se conocen normalmente como "polimorfos". La invención incluye dichos polimorfos. Los polimorfos pueden tener la misma composición química pero diferir en el empaquetamiento, la disposición geométrica y otras propiedades descriptivas del estado sólido cristalino. Los polimorfos, por lo tanto, pueden tener propiedades físicas diferentes tales como forma, densidad, dureza, deformabilidad, estabilidad y propiedades de disolución. Los polimorfos muestran

normalmente diferentes puntos de fusión, espectros de IR y patrones de difracción de rayos X de polvo, que pueden usarse para su identificación. Se apreciará que pueden producirse polimorfos diferentes, por ejemplo, cambiando o ajustando las condiciones de reacción o los reactivos, utilizados en la preparación del compuesto. Por ejemplo, cambios en la temperatura, la presión o el disolvente pueden dar como resultado polimorfos. Además, un polimorfo puede convertirse espontáneamente en otro en determinadas condiciones. Las formas polimórficas de los compuestos de fórmula (I) pueden caracterizarse y diferenciarse usando una serie de técnicas analíticas convencionales, incluyendo, pero sin limitación, patrones de difracción de rayos X de polvo (DRXP), espectros de infrarrojo (IR), espectros Raman, calorimetría diferencial de barrido (CDB), análisis termogravimétrico (ATG) y resonancia magnética nuclear en estado sólido (RMNes).

Los compuestos de acuerdo con la fórmula (I) pueden contener uno o más centros asimétricos (también denominados centros quirales) y pueden, por lo tanto, existir como enantiómeros, diastereoisómeros u otras formas estereoisoméricas individuales, o como mezclas de los mismos. Los centros quirales, tales como átomos de carbono quirales, también pueden estar presentes en un sustituyente tal como un grupo alquilo. Cuando la estereoquímica de un centro quiral presente en la fórmula (I), o en cualquier estructura química ilustrada en el presente documento, no se especifica, la estructura pretende abarcar cualquier estereoisómero y todas las mezclas de estereoisómeros. Por lo tanto, los compuestos de acuerdo con la fórmula (I) que contienen uno o más centros quirales pueden usarse como mezclas racémicas, mezclas enriquecidas enantioméricamente o como estereoisómeros individuales enantioméricamente puros. En consecuencia, la presente invención abarca todos los estereoisómeros de los compuestos de fórmula (I), ya sea como isómeros individuales aislados de manera que estén sustancialmente libres del otro isómero (es decir, puros) o como mezclas (es decir, mezclas racémicas). Un isómero individual aislado de manera que esté sustancialmente libre del otro isómero (es decir, puro) puede aislarse de manera que menos del 10 %, particularmente menos de aproximadamente el 1 %, por ejemplo, menos de aproximadamente el 0,1 % del otro isómero esté presente.

Los compuestos racémicos con un único estereocentro se indican sin estereoquímica (enlace sencillo) o tienen la anotación (+/-) o *rac*. Los compuestos racémicos con dos o más estereocentros en los que se conoce la estereoquímica relativa se indican como *cis* o *trans*, como se dibuja en la estructura. Los enantiómeros individuales resueltos con estereoquímica absoluta desconocida pero con estereoquímica relativa conocida se denominan con (*R** o *S**) con la estereoquímica relativa apropiada representada.

Cuando se representan los diastereoisómeros y solo se hace referencia a la estereoquímica relativa, se usan los símbolos de enlace sólido en negrita o discontinuos (**—/|**). Cuando se conoce la estereoquímica absoluta y el compuesto es un único enantiómero, se usan los símbolos de cuñas en negrita o discontinuas (**—/|**) según sea apropiado.

Los estereoisómeros individuales de un compuesto de acuerdo con la fórmula (I) que contienen uno o más centros asimétricos pueden resolverse mediante métodos conocidos por los expertos en la materia. Por ejemplo, dicha resolución puede realizarse (1) por formación de sales diastereoisoméricas, complejos u otros derivados; (2) por reaccionar selectiva con un reactivo específico de estereoisómero, por ejemplo, por oxidación o reducción enzimática; o (3) por cromatografía de gas-líquido o de líquidos en un entorno quiral, por ejemplo, en un soporte quiral tal como sílice con un ligando quiral unido o en presencia de un disolvente quiral. Se apreciará que cuando el estereoisómero deseado se convierte en otra entidad química mediante uno de los procedimientos de separación descritos anteriormente, se requiere una etapa adicional para liberar la forma deseada. Como alternativa, los estereoisómeros específicos pueden sintetizarse por síntesis asimétrica usando reactivos, sustratos, catalizadores o disolventes ópticamente activos, o convirtiendo un enantiómero en el otro por transformación asimétrica.

Se apreciará que, para los compuestos de fórmula (I) pueden observarse tautómeros. Cualquier comentario relativo a la actividad biológica de un tautómero debe considerarse que incluye ambos tautómeros.

Ha de entenderse que las referencias del presente documento a compuestos de fórmula (I) y sales de los mismos abarcan los compuestos de fórmula (I) en forma de bases libres, o en forma de sales de los mismos, por ejemplo, en forma de sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. Por lo tanto, en una realización, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I) en forma de base libre. En otra realización, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I) y sales de los mismos. En una realización adicional, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I) y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Debido a su uso potencial en medicina, las sales de los compuestos de fórmula (I) deseablemente son farmacéuticamente aceptables. Las sales farmacéuticamente aceptables adecuadas pueden incluir sales de adición de ácidos o sales de adición de bases. Para una revisión de sales farmacéuticamente aceptables adecuadas véase Berge *et al.*, J. Pharm. Sci., 66:1-19, (1977). Normalmente, una sal farmacéuticamente aceptable puede prepararse fácilmente usando un ácido o una base deseados, según sea apropiado. La sal resultante puede precipitar en la solución y recogerse por filtración o puede recuperarse por evaporación del disolvente.

Una sal de adición de ácidos farmacéuticamente aceptable puede formarse por reacción de un compuesto de fórmula (I) con un ácido inorgánico u orgánico adecuado (tal como ácido bromhídrico, clorhídrico, sulfúrico, nítrico, fosfórico,

succínico, maleico, acético, propiónico, fumárico, cítrico, tartárico, láctico, benzoico, salicílico, aspártico, *p*-toluenosulfónico, bencenosulfónico, metanosulfónico, etanosulfónico, naftalenosulfónico, tal como 2-naftalenosulfónico, o hexanoico), opcionalmente en un disolvente adecuado tal como un disolvente orgánico, para proporcionar la sal que por lo general se aísla, por ejemplo, por cristalización y filtración o por evaporación seguida de trituración. Una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable de un compuesto de fórmula (I) puede comprender o ser, por ejemplo, una sal bromhidrato, clorhidrato, sulfato, nitrato, fosfato, succinato, maleato, acetato, propionato, fumarato, citrato, tartrato, lactato, benzoato, salicilato, glutamato, aspartato, *p*-toluenosulfonato, bencenosulfonato, metanosulfonato, etanosulfonato, naftalenosulfonato (por ejemplo, 2-naftalenosulfonato) o hexanoato.

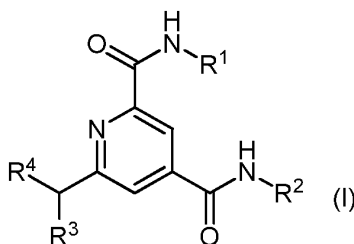
Pueden usarse otras sales no farmacéuticamente aceptables, por ejemplo, formiatos o trifluoroacetatos, por ejemplo, en el aislamiento de los compuestos de fórmula (I), y se incluyen dentro del alcance de la presente invención.

La invención incluye dentro de su alcance todas las posibles formas estequiométricas y no estequiométricas de las sales de los compuestos de fórmula (I).

Se apreciará a partir de lo anterior que dentro del alcance de la invención se incluyen estereoisómeros y formas polimórficas de los compuestos de fórmula (I) y sales de los mismos.

DECLARACIÓN DE LA INVENCION

En un primer aspecto, se proporcionan compuestos de fórmula (I):



o una sal de los mismos

R¹ es -alquilo o ciclopropilo C₁₋₃;

R² es -H, -CH₃, alquilo C₂₋₆ opcionalmente sustituido con hasta cinco flúor, -alquil C₂₋₆OR⁷, -alquil C₂₋₆NR⁷R⁸, -(CH₂)_mSO₂alquilo C₁₋₃, -(CH₂)_mC(O)NR⁷R⁸, -(CH₂)_mCN, -(CH₂)_mCO₂R⁷, -(CH₂)_mNHCO₂C(CH₃)₃; o

R² es -(CH₂)_nheteroarilo C₅₋₆ en donde el heteroarilo C₅₋₆ está opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente entre halo, -alquilo C₁₋₄, -cicloalquilo C₃₋₄ y -alquil C₀₋₄OR⁵;

R³ es -H, -alquilo C₁₋₄, ciclopropilo, flúor, cloro, -CH₂F, -alquil C₀₋₃OR⁵ o -alquil C₀₋₃CN;

R⁴ es fenilo o un grupo heteroarilo en donde cada uno está opcionalmente sustituido con uno, dos o tres grupos R⁶ que pueden ser iguales o diferentes;

R⁵ es -H o -alquilo C₁₋₃;

cada R⁶ es independientemente halo, -alquilo C₁₋₄, -alquil C₀₋₃OR⁷, -alquil C₀₋₃NR⁹R¹⁰, -alquil C₀₋₃-CONR⁹R¹⁰, -CN, oxo, -SO₂-alquilo C₁₋₃ o -SO₂NR⁹R¹⁰;

R⁷ y R⁸ se seleccionan cada uno independientemente entre -H, -alquilo C₁₋₃ y -alquil C₂₋₄O-alquilo C₀₋₃;

R⁹ y R¹⁰ se seleccionan cada uno independientemente entre -H y -alquil C₁₋₃; o R⁹ y R¹⁰ pueden unirse junto con el nitrógeno al que están unidos, para formar un heterociclilo de 4 a 7 miembros opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente entre -alquilo C₁₋₃ opcionalmente sustituido con hasta 3 átomos de flúor, -alquil C₂₋₄OH, -OH y F;

m es un número entero seleccionado entre 2, 3 o 4; y

n es un número entero seleccionado entre 0, 1, 2, 3 o 4.

En una realización, R¹ es metilo.

En una realización, R² es H.

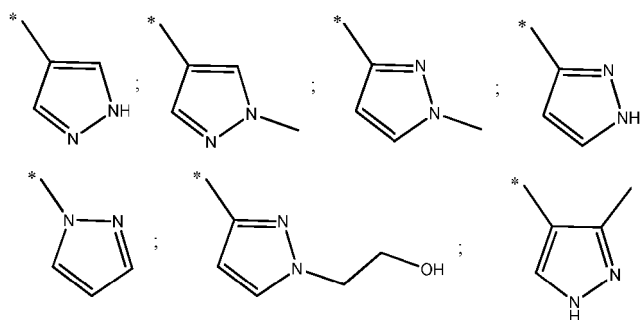
En una realización, R² se selecciona entre metilo, etilo, propilo, *iso*-propilo, butilo, -CH₂CH₂CH(CH₃)₂, -CH₂CH(CH₃)₂, -CH₂CH₂OR⁷, -CH₂CH₂CH₂OR⁷, -CH₂CH(CH₃)OR⁷, -CH₂CH₂CH(CH₃)OR⁷, -CH₂CH₂CH(OR⁷)₂, -CH₂CH₂CH(CH₃)NR⁷R⁸, -CH₂CH₂CH₂NR⁷R⁸, -(CH₂)_mSO₂CH₃, -(CH₂)_mC(O)NHCH₃, -(CH₂)_mCN, -(CH₂)_mCO₂R⁷, -(CH₂)_mCF₃ y -(CH₂)_mNHCO₂C(CH₃)₃.

En otra realización, R² es -alquilo C₁₋₆ seleccionado entre metilo, etilo, propilo, *iso*-propilo, butilo, -CH₂CH₂CH(CH₃)₂ y -CH₂CH(CH₃)₂. En otra realización, R² es -alquil C₁₋₆OR⁷ seleccionado entre -CH₂CH₂OR⁷, -CH₂CH₂CH₂OR⁷, -CH₂CH(CH₃)OR⁷, -CH₂CH₂CH(CH₃)OR⁷ y -CH₂CH₂CH(OR⁷)₂. En otra realización, R² es -alquil C₁₋₆NR⁷R⁸

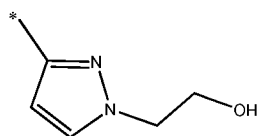
seleccionado entre $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{NR}^7\text{R}^8$ y $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NR}^7\text{R}^8$. En otra realización, R^2 es $-(\text{CH}_2)_m\text{SO}_2\text{CH}_3$. En otra realización, R^2 es $-(\text{CH}_2)_m\text{C}(\text{O})\text{NHCH}_3$. En otra realización, R^2 es $-(\text{CH}_2)_m\text{CN}$. En otra realización, R^2 es $-(\text{CH}_2)_m\text{CO}_2\text{R}^7$. En otra realización, R^2 es $-(\text{CH}_2)_m\text{CF}_3$. En otra realización, R^2 es $-(\text{CH}_2)_m\text{NHCO}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$.

En otra realización, R^2 es $-(\text{CH}_2)_n$ heteroarilo C_{5-6} en donde el heteroarilo C_{5-6} se selecciona entre furanilo, tienilo, pirrolilo, triazolilo, tiazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, oxadiazolilo, imidazolilo, pirazolilo, triazolilo, tetrazolilo, isoxazolilo, piridinilo, piridazinilo, pirazinilo y pirimidinilo, estando dichos grupos opcionalmente sustituidos con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente entre halo, alquilo C_{1-4} (tal como metilo), cicloalquilo C_{3-4} y -alquil $\text{C}_{0-3}\text{OR}^5$.

En otra realización se proporcionan compuestos de fórmula (I) en la que R^2 es $-(\text{CH}_2)_n$ heteroarilo C_{5-6} en donde el heteroarilo C_{5-6} es pirazolilo opcionalmente sustituido con alquilo C_{1-4} o -alquil $\text{C}_{0-3}\text{OR}^5$. En una realización particular se proporcionan compuestos de fórmula (I) en la que R^2 es $-(\text{CH}_2)_n$ heteroarilo C_{5-6} en donde el heteroarilo C_{5-6} se selecciona entre el grupo que consiste en



y



en donde * indica el punto de unión al resto alquilo.

En una realización, R^3 es -H, metilo, fluoro, $-\text{OCH}_3$ o -OH.

En una realización, R^4 es fenilo opcionalmente sustituido con uno, dos o tres grupos R^6 que pueden ser iguales o diferentes. En otra realización, R^4 es fenilo sin sustituir.

En otra realización, R^4 es un grupo heteroarilo que es indolilo (por ejemplo, 1H-indol-4-ilo) opcionalmente sustituido con uno, dos o tres grupos R^6 que pueden ser iguales o diferentes. En otra realización, R^4 es un grupo heteroarilo que es 1H-indol-4-ilo.

En una realización, cada R^6 es independientemente halo, -alquilo C_{1-4} o -alquil $\text{C}_{0-3}\text{OR}^7$.

En una realización, m es 2 o 3.

En una realización, n es 0, 1 o 2. En una realización, n es 0 o 2. En una realización más, n es 0. En una realización más, n es 2.

Ha de entenderse que la presente invención abarca todas las combinaciones de grupos sustituyentes descritos anteriormente.

Los compuestos de la invención incluyen los compuestos de los Ejemplos 1 a 81 y sales de los mismos.

En una realización, el compuesto de fórmula (I) se selecciona entre:

6-Bencil-N²-metil-N⁴-(1-metil-1H-pirazol-4-il)piridin-2,4-dicarboxamida;
 6-Bencil-N²-metil-N⁴-(1H-pirazol-4-il)piridin-2,4-dicarboxamida;
 (S)-N²-Metil-6-(1-feniletíl)-N⁴-(1H-pirazol-4-il)piridin-2,4-dicarboxamida; y
 (S)-6-(Metoxi(fenil)metil)-N²-metil-N⁴-(1H-pirazol-4-il)piridin-2,4-dicarboxamida o una sal de la misma.

En un segundo aspecto de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un

compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

- 5 En un tercer aspecto de la presente invención, se proporciona un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en terapia, en particular, en el tratamiento de enfermedades o afecciones para las que está indicado un inhibidor de bromodominio.

DECLARACIÓN DE USO

- 10 Los compuestos de fórmula (I) y las sales de los mismos son inhibidores de bromodominios, por lo tanto se cree que tienen una utilidad potencial en el tratamiento de enfermedades o afecciones para las que está indicado un inhibidor de bromodominio.

- 15 Se cree que los inhibidores de bromodominios son útiles en el tratamiento de una diversidad de enfermedades o afecciones relacionadas con inflamación sistémica o tisular, respuestas inflamatorias a infección o hipoxia, activación y proliferación celular, metabolismo lipídico, fibrosis y en la prevención y el tratamiento de infecciones víricas.

- Los inhibidores de bromodominios pueden ser útiles en el tratamiento de una amplia diversidad de afecciones autoinmunitarias y/o inflamatorias agudas o crónicas, tales como artritis reumatoide, artritis psoriásica, espondilitis anquilosante, osteoartritis, gota aguda, psoriasis, lupus eritematoso sistémico, esclerosis múltiple, enfermedad inflamatoria intestinal (enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa), asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, neumonitis, miocarditis, pericarditis, miositis, eccema, dermatitis (incluyendo, la dermatitis atópica), alopecia, vitiligo, dermatosis ampulosas, nefritis, vasculitis, hipercolesterolemia, aterosclerosis, enfermedad de Alzheimer, síndrome de Sjögren, sialoadenitis, oclusión de la vena retiniana central, oclusión de la vena retiniana ramificada, síndrome de Irvine-Gass (post-cataratas y post-quirúrgico), retinitis pigmentaria, pars planitis, retinocoroidopatía en perdigonada, membrana epirretiniana, edema macular quístico, telangiectasia parafoveal, maculopatías traccionales, síndromes de tracción vitreomacular, desprendimiento de retina, neurorretinitis, edema macular idiopático, retinitis, ojo seco (queratoconjuntivitis seca), queratoconjuntivitis primaveral, queratoconjuntivitis atópica, uveítis (tal como uveítis anterior, pan uveítis, uveítis posterior, edema macular asociado a uveítis), escleritis, retinopatía diabética, edema macular diabético, distrofia macular asociada a la edad, hepatitis, pancreatitis, cirrosis biliar primaria, colangitis esclerosante, hepatitis alcohólica aguda, hepatitis alcohólica crónica, esteato-hepatitis alcohólica, esteato-hepatitis no alcohólica (EHNA), cirrosis, cirrosis de Childs-Pugh, hepatitis autoinmunitaria, hepatitis fulminante, hepatitis vírica crónica, enfermedad de hígado alcohólico, esclerosis sistémica, esclerosis sistémica con enfermedad pulmonar intersticial asociada, sarcoidosis, neurosarcoidosis, enfermedad de Addison, hipofisitis, tiroiditis, diabetes de tipo I, diabetes de tipo II, arteritis de células gigantes, nefritis, incluyendo nefritis lúpica, vasculitis con implicación orgánica tal como glomerulonefritis, vasculitis, incluyendo arteritis de células gigantes, granulomatosis de Wegener, poliarteritis nodosa, enfermedad de Behcet, enfermedad de Kawasaki, arteritis de Takayasu, pioderma gangrenoso, vasculitis con afectación orgánica, rechazo agudo de órganos trasplantados y esclerosis sistémica.

- 40 En una realización, la afección autoinmunitaria y/o inflamatoria aguda o crónica es un trastorno del metabolismo lipídico mediado a través de la regulación de la APO-A1, tal como hipercolesterolemia, aterosclerosis o enfermedad de Alzheimer.

- 45 En otra realización, la afección autoinmunitaria y/o inflamatoria aguda o crónica es un trastorno respiratorio tal como el asma o la enfermedad obstructiva crónica de las vías respiratorias.

- En otra realización, la afección autoinmunitaria y/o inflamatoria aguda o crónica es un trastorno inflamatorio sistémico tal como artritis reumatoide, osteoartritis, gota aguda, psoriasis, lupus eritematoso sistémico, esclerosis múltiple o enfermedad inflamatoria intestinal (enfermedad de Crohn o colitis ulcerosa).

- 50 En otra realización, la afección autoinmunitaria y/o inflamatoria aguda o crónica es la esclerosis múltiple.

En otra realización, la afección autoinmunitaria y/o inflamatoria aguda o crónica es la diabetes de tipo I.

- 55 En otra realización, la afección autoinmunitaria y/o inflamatoria aguda o crónica es la artritis reumatoide.

Los inhibidores de bromodominios pueden ser útiles en el tratamiento de la depresión.

- Los inhibidores de bromodominios pueden ser útiles en el tratamiento de enfermedades o afecciones que implican respuestas inflamatorias a infecciones con bacterias, virus, hongos, parásitos o sus toxinas, tal como septicemia, septicemia aguda, síndrome séptico, choque séptico, endotoxemia, síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS), síndrome de disfunción multiorgánica, síndrome de choque tóxico, lesión pulmonar aguda, SDRA (síndrome de dificultad respiratoria del adulto), insuficiencia renal aguda, hepatitis fulminante, quemaduras, pancreatitis aguda, síndromes postquirúrgicos, sarcoidosis, reacciones de Herxheimer, encefalitis, mielitis, meningitis, malaria y el SRIS asociado a infecciones víricas tales como gripe, herpes zóster, herpes simple y coronavirus. En una realización, la enfermedad o afección que implica una respuesta inflamatoria a una infección con bacterias, un virus, hongos, un

parásito o sus toxinas es la septicemia aguda.

Los inhibidores de bromodominios pueden ser útiles en el tratamiento de afecciones asociadas a la lesión por isquemia-reperfusión, tales como infarto de miocardio, isquemia cerebro-vascular (ictus), síndromes coronarios agudos, lesión por reperfusión renal, trasplante de órganos, injerto de derivación de arterias coronarias, procedimientos de derivación cardiopulmonar, embolia pulmonar, renal, hepática, gastrointestinal o de las extremidades periféricas.

Los inhibidores de bromodominios pueden ser útiles en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares tales como arteriopatías coronarias (por ejemplo, angina o infarto de miocardio), hipertensión pulmonar arterial, isquemia cerebro-vascular (ictus), cardiopatía hipertensiva, cardiopatía reumática, miocardiopatía, fibrilación auricular, cardiopatía congénita, endocarditis, aneurismas aórticos o arteriopatía periférica.

Los inhibidores de bromodominios pueden ser útiles en el tratamiento de afecciones fibróticas tales como fibrosis pulmonar idiopática, fibrosis pulmonar, fibrosis quística, fibrosis masiva progresiva, fibrosis renal, fibrosis hepática, cirrosis hepática, esteatohepatitis no alcohólica (EHNA), enfermedad del hígado graso no alcohólico (EHGNA), estenosis postoperatoria, formación de cicatrices queloides, esclerodermia (incluyendo esclerosis sistémica y morfea), fibrosis cardíaca, fibrosis auricular, fibrosis endomiocárdica, infarto de miocardio antiguo, artrofibrosis, contractura de Dupuytren, mediastínico, mielofibrosis, enfermedad de Peyronie, fibrosis sistémica nefrótica, fibrosis retroperitoneal y capsulitis adhesiva.

Los inhibidores de bromodominios pueden ser útiles en el tratamiento de infecciones víricas tales como infecciones y reactivaciones del herpes simple, calenturas, infecciones y reactivaciones del herpes zóster, varicela, culebrillas, virus del papiloma humano (VPH), virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), neoplasia del cuello uterino, infecciones por adenovirus, incluyendo la enfermedad respiratoria aguda, infecciones por poxvirus tales como viruela vacuna o viruela, o virus de la peste porcina africana. En una realización, la infección vírica es una infección por VPH de la piel o los epitelios cervicales. En otra realización, la infección vírica es una infección latente por VIH.

Los inhibidores de bromodominios pueden ser útiles en el tratamiento de una amplia diversidad de trastornos óseos tales como osteoporosis, osteopenia, osteoartritis y espondilitis anquilosante.

Los inhibidores de bromodominios pueden ser útiles en el tratamiento del cáncer, incluyendo los cánceres hemáticos (tales como leucemia, linfoma y mieloma múltiple), cánceres epiteliales (incluyendo los carcinomas de pulmón, mama o colon), carcinomas de la línea media o tumores mesenquimatosos, hepáticos, renales o neurológicos.

Los inhibidores de bromodominios pueden ser útiles en el tratamiento de uno o más cánceres seleccionados entre cáncer de cerebro (gliomas), glioblastomas, síndrome de Bannayan-Zonana, enfermedad de Cowden, enfermedad de Lhermitte-Duclos, cáncer de mama, cáncer de mama inflamatorio, cáncer colorrectal, tumor de Wilm, sarcoma de Ewing, rhabdomyosarcoma, ependimoma, meduloblastoma, cáncer de colon, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de riñón, cáncer de pulmón, cáncer de hígado, melanoma, carcinoma de células escamosas, cáncer de ovario, cáncer de páncreas, cáncer de próstata, cáncer sarcoma, osteosarcoma, tumor óseo de células gigantes, cáncer de tiroides, leucemia linfoblástica de linfocitos T, leucemia mielógena crónica, leucemia linfocítica crónica, leucemia de células pilosas, leucemia linfoblástica aguda, leucemia mielógena aguda, leucemia neutrofílica crónica, leucemia linfoblástica aguda de linfocitos T, plasmacitoma, leucemia inmunoblástica de células grandes, leucemia de células del manto, mieloma múltiple, leucemia megacarioblástica, leucemia megacariocítica aguda, leucemia promielocítica, leucemia de linaje mixto, eritroleucemia, linfoma maligno, linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, linfoma linfoblástico de linfocitos T, linfoma de Burkitt, linfoma folicular, neuroblastoma, cáncer de vejiga, cáncer urotelial, cáncer de vulva, cáncer de cuello uterino, cáncer de endometrio, cáncer renal, mesotelioma, cáncer de esófago, cáncer de glándulas salivales, cáncer hepatocelular, cáncer gástrico, cáncer de nasofaringe, cáncer bucal, cáncer de boca, TEG1 (tumor del estroma gastrointestinal), carcinoma de línea media NUT y cáncer de testículo.

En una realización, el cáncer es leucemia, por ejemplo, una leucemia seleccionada entre leucemia monocítica aguda, leucemia mielógena aguda, leucemia mielógena crónica, leucemia linfocítica crónica y leucemia de linaje mixto (LLM). En otra realización, el cáncer es carcinoma de línea media NUT. En otra realización, el cáncer es mieloma múltiple. En otra realización, el cáncer es un cáncer de pulmón tal como cáncer de pulmón microcítico (CPM). En otra realización, el cáncer es un neuroblastoma. En otra realización, el cáncer es linfoma de Burkitt. En otra realización, el cáncer es cáncer de cuello uterino. En otra realización, el cáncer es cáncer de esófago. En otra realización, el cáncer es cáncer de ovario. En otra realización, el cáncer es cáncer de mama. En otra realización, el cáncer es cáncer colorrectal. En otra realización, el cáncer es cáncer de próstata. En otra realización, el cáncer es cáncer de próstata resistente a la castración.

Los inhibidores de bromodominios pueden ser útiles en el tratamiento de enfermedades asociadas al síndrome de respuesta inflamatoria sistémica, tal como septicemia, quemaduras, pancreatitis, traumatismo grave, hemorragia e isquemia. En esta realización, el inhibidor de bromodominio se administraría en el momento del diagnóstico para reducir la incidencia de: SRIS, la aparición de choque, síndrome de disfunción multiorgánica, que incluye la aparición de lesión pulmonar aguda, SDRA, lesión aguda renal, hepática, cardíaca o gastrointestinal y mortalidad. En otra

realización, el inhibidor de bromodominio se administraría antes de los procedimientos quirúrgicos u otros asociados a un riesgo elevado de septicemia, hemorragia, daño tisular extenso, SRIS o SDOM (síndrome de disfunción orgánica múltiple). En una realización particular, la enfermedad o afección para la que está indicado un inhibidor de bromodominio es septicemia, síndrome séptico, choque séptico y endotoxemia. En otra realización, el inhibidor de bromodominio está indicado para el tratamiento de la pancreatitis aguda o crónica. En otra realización, el bromodominio está indicado para el tratamiento de quemaduras.

La presente invención, por lo tanto, proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en terapia. El compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéutica del mismo puede usarse en el tratamiento de enfermedades o afecciones para las que está indicado un inhibidor de bromodominio.

La presente invención, por lo tanto, proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de una enfermedad o afección para la que está indicado un inhibidor de bromodominio. En una realización, se proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de afecciones autoinmunitarias y/o inflamatorias agudas o crónicas. En una realización, se proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de la artritis reumatoide. En otra realización, se proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de enfermedades o afecciones que implican respuestas inflamatorias a infecciones con bacterias, virus, hongos, parásitos o sus toxinas. En otra realización, se proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de afecciones asociadas a la lesión por isquemia-reperusión. En otra realización, se proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares. En otra realización, se proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de afecciones fibróticas. En otra realización, se proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de infecciones víricas. En otra realización, se proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de trastornos óseos. En otra realización, se proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento del cáncer. En otra realización, se proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de enfermedades asociadas al síndrome de respuesta inflamatoria sistémica.

Convenientemente, el sujeto que lo necesita es un mamífero, en particular, un ser humano.

Como se usa en el presente documento, la referencia al "tratamiento" de una enfermedad o afección particular incluye la prevención o profilaxis de una enfermedad o afección de este tipo.

COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS/VÍAS DE ADMINISTRACIÓN/DOSIS

Composiciones

Aunque es posible que, para su uso en terapia, un compuesto de fórmula (I), así como las sales farmacéuticamente aceptables del mismo, puedan administrarse como producto químico en bruto, es habitual presentar el principio activo como una composición farmacéutica. Los compuestos de fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos normalmente, pero no necesariamente, se formularán en composiciones farmacéuticas antes de su administración a un paciente. En consecuencia, en otro aspecto, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. Los compuestos de fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables son como se han descrito anteriormente. El excipiente o excipientes deben ser aceptables en el sentido de ser compatibles con los otros ingredientes de la composición y no perjudiciales para el receptor de los mismos. De acuerdo con otro aspecto de la invención, también se proporciona un proceso para la preparación de una composición farmacéutica que incluye mezclar un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, con uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo puede prepararse por, por ejemplo, la mezcla a temperatura ambiente y a presión atmosférica. La composición farmacéutica puede usarse en el tratamiento de cualquiera de las afecciones descritas en el presente documento.

En otro aspecto, la invención se refiere a composiciones farmacéuticas para el tratamiento de una enfermedad o afección para la que está indicado un inhibidor de bromodominio que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Puesto que los compuestos de fórmula (I) tienen por objeto su uso en composiciones farmacéuticas, se entenderá fácilmente que cada uno de ellos se proporciona preferentemente en forma sustancialmente pura, por ejemplo, con una pureza de al menos el 85 %, especialmente con una pureza de al menos el 98 % (% en peso por peso).

Las composiciones farmacéuticas pueden presentarse en formas de dosis unitarias que contienen una cantidad

predeterminada de principio activo por unidad de dosis. Las composiciones de dosis unitarias preferidas son aquellas que contienen una dosis o subdosis diaria, o una fracción apropiada de la misma, de un principio activo. Por lo tanto, dichas dosis unitarias pueden administrarse más de una vez al día. Son composiciones de dosificación unitarias preferidas aquellas que contienen una dosis o subdosis diaria (para la administración más de una vez al día), como se ha citado anteriormente en el presente documento, o una fracción apropiada de la misma, de un principio activo.

Las composiciones farmacéuticas pueden adaptarse para la administración mediante cualquier vía apropiada, por ejemplo, mediante la vía oral (incluyendo la bucal o sublingual), rectal, inhalada, intranasal, tópica (incluyendo la bucal, sublingual o transdérmica), ocular (incluyendo la tópica, intraocular, subconjuntival, epiesclerótica, subtenon), vaginal o parenteral (incluyendo la subcutánea, intramuscular, intravenosa o intradérmica). Dichas composiciones pueden prepararse mediante cualquier método conocido en la técnica de la farmacia, por ejemplo, mediante la asociación del principio activo con los vehículos o excipientes.

Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden prepararse y acondicionarse en masa en donde puede extraerse una cantidad segura y eficaz de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y después proporcionarse al paciente tal como con polvos o jarabes. Como alternativa, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden prepararse y envasarse en una forma farmacéutica unitaria en donde cada unidad físicamente individual contiene un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Cuando se preparan en forma farmacéutica unitaria, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden contener normalmente, por ejemplo, de 0,25 mg a 1 g, o de 0,5 mg a 500 mg, o de 1 mg a 100 mg, de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

El compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y el excipiente o excipientes farmacéuticamente aceptables se formularán normalmente en una forma farmacéutica adaptada para la administración al paciente por la vía de administración deseada. Por ejemplo, las formas farmacéuticas incluyen aquellas adaptadas para (1) la administración oral, tales como comprimidos, cápsulas, comprimidos oblongos, píldoras, trociscos, polvos, jarabes, elixires, suspensiones, soluciones, emulsiones, sobres y sellos; (2) la administración parenteral, tales como soluciones estériles, suspensiones y polvos para la reconstitución; (3) la administración transdérmica, tales como parches transdérmicos; (4) la administración rectal, tales como supositorios; (5) inhalación, tales como aerosoles, soluciones y polvos secos; y (6) la administración tópica, tales como cremas, pomadas, lociones, soluciones, pastas, pulverizaciones, espumas y geles.

Los excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados variarán en función de la forma farmacéutica particular elegida. Además, los excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados pueden elegirse para una función particular para la que pueden servir en la composición. Por ejemplo, determinados excipientes farmacéuticamente aceptables pueden elegirse por su capacidad para facilitar la producción de formas farmacéuticas uniformes. Determinados excipientes farmacéuticamente aceptables pueden elegirse por su capacidad para facilitar la producción de formas farmacéuticas estables. Determinados excipientes farmacéuticamente aceptables pueden elegirse por su capacidad para facilitar el transporte del compuesto o compuestos de fórmula (I) o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos una vez administrados al sujeto desde un órgano o parte del cuerpo, a otro órgano o parte del organismo. Determinados excipientes farmacéuticamente aceptables pueden elegirse por su capacidad para potenciar el cumplimiento del sujeto.

Los excipientes farmacéuticamente aceptables incluyen los siguientes tipos de excipientes: vehículos, diluyentes, cargas, aglutinantes, disgregantes, lubricantes, sustancias de deslizamiento, agentes de granulación, agentes de recubrimiento, agentes humectantes, disolventes, codisolventes, agentes de suspensión, emulsionantes, edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes enmascaradores del sabor, agentes colorantes, agentes antiaglomerantes, humectantes, agentes quelantes, plastificantes, agentes aumentadores de la viscosidad, antioxidantes, conservantes, estabilizantes, tensioactivos y agentes tamponantes. El experto apreciará que determinados excipientes farmacéuticamente aceptables pueden cumplir más de una función y pueden cumplir funciones alternativas en función de la cantidad de excipiente presente en la formulación y de qué otros excipientes estén presentes en la formulación.

Los expertos poseen el conocimiento y la experiencia en la técnica para permitirles seleccionar excipientes farmacéuticamente aceptables apropiados en cantidades apropiadas para su uso en la invención. Además, existe una serie de recursos disponibles que describen los excipientes farmacéuticamente aceptables y que pueden ser útiles a la hora de seleccionar excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados. Los ejemplos incluyen *Remington's Pharmaceutical Sciences* (Mack Publishing Company), *The Handbook of Pharmaceutical Additives* (Gower Publishing Limited) y *The Handbook of Pharmaceutical Excipients* (the American Pharmaceutical Association and the Pharmaceutical Press).

Las composiciones farmacéuticas de la invención se preparan usando técnicas y métodos conocidos por los expertos en la materia. Algunos de los métodos utilizados habitualmente en la técnica se describen en *Remington's Pharmaceutical Sciences* (Mack Publishing Company).

En una realización, la composición farmacéutica está adaptada para la administración parenteral, particularmente la

administración intravenosa.

En una realización, la composición farmacéutica está adaptada para la administración oral.

- 5 En una realización, la composición farmacéutica está adaptada para la administración tópica.

Las composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración parenteral incluyen soluciones inyectables estériles acuosas y no acuosas (que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos y solutos que hacen que la composición sea isotónica con la sangre del receptor previsto) y suspensiones estériles acuosas y no acuosas (que pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes). Las composiciones pueden presentarse en envases monodosis o multidosis, por ejemplo, ampollas y viales sellados y pueden almacenarse en un estado criodesecado (liofilizado) que requiere solo la adición del vehículo líquido estéril, por ejemplo, agua para inyecciones, inmediatamente antes de su uso. Pueden prepararse soluciones y suspensiones para inyección extemporáneas a partir de polvos, gránulos y comprimidos estériles.

15 Las composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración oral pueden presentarse como unidades individuales, tales como cápsulas o comprimidos; polvos o gránulos; soluciones o suspensiones en líquidos acuosos o no acuosos; espumas o batidos comestibles; emulsiones líquidas de aceite en agua o emulsiones líquidas de agua en aceite.

20 Por ejemplo, para la administración oral en forma de un comprimido o una cápsula, el componente de fármaco activo puede combinarse con un vehículo inerte oral, no tóxico, farmacéuticamente aceptable, tal como etanol, glicerol, agua y similares. Pueden prepararse polvos adecuados para su incorporación en comprimidos o cápsulas reduciendo el compuesto a un tamaño fino adecuado (por ejemplo, por micronización) y mezclándolo con un vehículo farmacéutico preparado de forma similar, tal como un hidrato de carbono comestible, por ejemplo, almidón o manitol. También puede haber presentes agentes aromatizantes, conservantes, dispersantes y colorantes.

30 Las cápsulas pueden fabricarse preparando una mezcla pulverulenta, como se ha descrito anteriormente y rellenando vainas de gelatina formadas. Pueden añadirse agentes de deslizamiento y lubricantes tales como sílice coloidal, talco, estearato de magnesio, estearato de calcio o polietilenglicol sólido a la mezcla pulverulenta antes de la operación de rellenado. Puede añadirse también un agente disgregante o solubilizante tal como agar-agar, carbonato de calcio o carbonato de sodio para mejorar la disponibilidad del medicamento cuando se ingiere la cápsula.

35 Por otra parte, cuando se desee o sea necesario, también pueden incorporarse a la mezcla aglutinantes, sustancias de deslizamiento, lubricantes, agentes edulcorantes, aromatizantes, agentes de disgregación (disgregantes) y agentes colorantes. Los aglutinantes adecuados incluyen almidón, gelatina, azúcares naturales tales como glucosa o beta-lactosa, edulcorantes de maíz, gomas naturales y sintéticas tales como goma arábiga, tragacanto o alginato de sodio, carboximetilcelulosa, polietilenglicol, ceras y similares. Los lubricantes utilizados en estas formas farmacéuticas incluyen oleato de sodio, estearato de sodio, estearato de magnesio, benzoato de sodio, acetato de sodio, cloruro de sodio y similares. Los disgregantes incluyen almidón, metilcelulosa, agar, bentonita, goma de xantano y similares. Los comprimidos se formulan, por ejemplo, preparando una mezcla pulverulenta, granulando o aglomerando, añadiendo un lubricante y disgregante y ejerciendo presión en los comprimidos. Se prepara una mezcla pulverulenta mezclando el compuesto, pulverizado adecuadamente, con un diluyente o base como se ha descrito anteriormente, y opcionalmente, con un aglutinante, tal como carboximetilcelulosa, un alginato, gelatina o polivinil pirrolidona, una solución retardante tal como parafina, un acelerador de la resorción tal como una sal cuaternaria y/o un agente de absorción tal como bentonita, caolín o fosfato dicálcico. La mezcla pulverulenta puede granularse humedeciéndola con un aglutinante, tal como un jarabe, pasta de almidón, mucílago de acacia o soluciones de materiales celulósicos o poliméricos y haciendo que pase a través de un tamiz. Como una alternativa a la granulación, la mezcla pulverulenta puede procesarse a través de la máquina compresora y el resultado son lingotes formados imperfectamente separados en gránulos. Los gránulos pueden lubricarse para impedir que se adhieran a las matrices para la formación de comprimidos mediante la adición de ácido esteárico, una sal de estearato, talco o aceite mineral. Después, la mezcla lubricada se comprime formando comprimidos. Los compuestos de fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos también pueden combinarse con un vehículo inerte de flujo libre y comprimirse en comprimidos directamente sin pasar por las etapas de granulación o precompresión. Puede proporcionarse un recubrimiento protector transparente u opaco que consiste en un recubrimiento sellador de goma laca, un recubrimiento de azúcar o material polimérico y un recubrimiento de cera para pulir. Pueden añadirse colorantes a estos recubrimientos para distinguir las diferentes dosificaciones unitarias.

60 Pueden prepararse fluidos orales tales como soluciones, jarabes y elixires en una forma farmacéutica unitaria de tal manera que una cantidad dada contenga una cantidad predeterminada del compuesto. Los jarabes pueden prepararse disolviendo el compuesto en una solución acuosa convenientemente aromatizada, mientras que los elixires se preparan a través del uso de un vehículo alcohólico no tóxico. Pueden formularse suspensiones dispersando el compuesto en un vehículo no tóxico. También pueden añadirse solubilizantes y emulsionantes tales como alcoholes isoestearílicos etoxilados y éteres de polioxietilen sorbitol, conservantes, un aditivo aromatizante, tal como aceite de menta o edulcorantes naturales o sacarina u otros edulcorantes artificiales, y similares.

Las composiciones para la administración oral pueden diseñarse para proporcionar un perfil de liberación modificado con el fin de sostener o controlar de otro modo la liberación del agente terapéuticamente activo.

- 5 Cuando sea apropiado, las composiciones unitarias de dosificación para la administración oral pueden microencapsularse. La composición puede prepararse para prolongar o sostener la liberación, por ejemplo, recubriendo o incrustando el material en forma de partículas en polímeros, cera o similares.

- 10 Para composiciones adecuadas y/o adaptadas para la administración oral, el compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, puede estar en una forma de tamaño de partícula reducido, por ejemplo, obtenida por micronización. El tamaño de partícula preferible del compuesto o sal de tamaño reducido (por ejemplo, micronizado) se define por un valor de D_{50} de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 10 micrómetros (por ejemplo, medido usando difracción láser).

- 15 Los compuestos de fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, también pueden administrarse en forma de sistemas de entrega liposómicos, tales como vesículas unilamelares pequeñas, vesículas unilamelares grandes y vesículas multilamelares. Los liposomas pueden formarse a partir de una diversidad de fosfolípidos, tales como colesterol, estearilamina o fosfatidilcolinas.

- 20 Las composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración tópica pueden formularse en forma de pomadas, cremas, suspensiones, emulsiones, lociones, polvos, soluciones, pastas, geles, espumas, pulverizaciones, aerosoles o aceites. Dichas composiciones farmacéuticas pueden incluir aditivos convencionales que incluyen, pero sin limitación, conservantes, disolventes para ayudar a la penetración del fármaco, codisolventes, emolientes, propelentes, agentes modificadores de la viscosidad (agentes gelificantes), tensioactivos y vehículos. En una realización, se proporciona una composición farmacéutica adaptada para la administración tópica que comprende entre el 0,01 y el 25 10 %, o entre el 0,01 y el 1 % del compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en peso de la composición.

- 30 Para los tratamientos oculares o de otros tejidos externos, por ejemplo, la boca y la piel, las composiciones se aplican preferentemente en forma de pomada, crema, gel, pulverización o espuma tópica. Cuando se formula en una pomada, el principio activo puede emplearse con una base de pomada parafínica o miscible en agua. Como alternativa, el principio activo puede formularse en una crema con una base de crema de aceite en agua o como una base de agua en aceite.

- 35 Las composiciones farmacéuticas adaptadas para administraciones tópicas oculares incluyen colirios, en donde el principio activo se disuelve o suspende en un vehículo adecuado, especialmente un disolvente acuoso. Las composiciones que han de administrarse en el ojo tendrán un pH y una osmolalidad oftálmicamente compatibles. En una composición de la invención pueden incluirse uno o más agentes de ajuste del pH y/o agentes tamponantes oftálmicamente aceptables, incluyendo ácidos como los ácidos acético, bórico, cítrico, láctico, fosfórico y clorhídrico; bases tales como hidróxido de sodio, fosfato de sodio, borato de sodio, citrato de sodio, acetato de sodio y lactato de sodio; y tampones tales como citrato/dextrosa, bicarbonato de sodio y cloruro de amonio. Dichos ácidos, bases y 40 tampones pueden incluirse en la cantidad necesaria para mantener el pH de la composición en un intervalo oftálmicamente aceptable. En la composición pueden incluirse una o más sales oftálmicamente aceptables en una cantidad suficiente para llevar la osmolalidad de la composición a un intervalo oftálmicamente aceptable. Dichas sales incluyen aquellas que tienen sodio, cationes de potasio o amonio y aniones cloruro, citrato, ascorbato, borato, fosfato, bicarbonato, sulfato, tiosulfato o bisulfito.

- 50 El dispositivo de entrega ocular puede diseñarse para la liberación controlada de uno o más agentes terapéuticos con múltiples tasas de liberación definidas y cinética de dosis sostenida y permeabilidad. La liberación controlada puede obtenerse a través del diseño de matrices poliméricas que incorporen diferentes opciones y propiedades de polímeros biodegradables/bioerosionables (por ejemplo, acetato de poli(etilenvinilo) (EVA), PVA superhidrolizado), hidroxialquilcelulosa (HPC), metilcelulosa (MC), hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), policaprolactona, ácido poli(glicólico), ácido poli(láctico), polianhídrido, de pesos moleculares de polímeros, cristalinidad de polímeros, relaciones de copolímeros, condiciones de procesamiento, acabado de superficie, geometría, adición de excipientes y recubrimientos poliméricos que potencien la difusión, erosión, disolución y ósmosis del fármaco.

- 55 Las composiciones farmacéuticas para la entrega ocular también incluyen la composición acuosa gelificable *in situ*. Una composición de este tipo comprende un agente gelificante en una concentración eficaz para promover la gelificación tras entrar en contacto con el ojo o con el fluido lagrimal. Los agentes gelificantes adecuados incluyen, pero sin limitación, polímeros termoestables. La expresión "gelificable *in situ*", como se usa en el presente documento, incluye no solo líquidos de baja viscosidad que forman geles tras entrar en contacto con el ojo o con el fluido lagrimal, sino que también incluye líquidos más viscosos, tales como geles semifluidos y tixotrópicos, que presentan un aumento sustancial de la viscosidad o de la rigidez del gel tras la administración en el ojo. Véase, por ejemplo, Ludwig (2005) Adv. Drug Deliv. Rev. 3;57:1595-639, incorporado por referencia en el presente documento a efectos de sus enseñanzas de ejemplos de polímeros para su uso en la entrega de fármacos oculares.

- 65 Las formas farmacéuticas para la administración nasal o inhalada pueden prepararse convenientemente en forma de

aerosoles, soluciones, suspensiones, geles o polvos secos.

Para composiciones adecuadas y/o adecuadas para la administración inhalada, se prefiere que el compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, esté en una forma de tamaño de partícula reducida, por ejemplo, por micronización. El tamaño de partícula preferible del compuesto o sal de tamaño reducido (por ejemplo, micronizado) se define por un valor de D_{50} de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 10 micrómetros (por ejemplo, medido usando difracción láser).

Las formulaciones en aerosol, por ejemplo, para la administración inhalada, pueden comprender una solución o suspensión fina del principio activo en un disolvente acuoso o no acuoso farmacéuticamente aceptable. Las formulaciones en aerosol pueden presentarse en cantidades monodosis o multidoses en forma estéril en un recipiente sellado, que puede adoptar la forma de un cartucho o recambio para su uso con un dispositivo atomizador o inhalador. Como alternativa, el recipiente sellado puede ser un dispositivo dispensador unitario, tal como un inhalador nasal de dosis única o un dispensador de aerosol provisto de una válvula dosificadora (inhalador de dosis medida) que está destinado a ser desechado una vez agotado el contenido del recipiente.

Cuando la forma farmacéutica comprende un dispensador de aerosol, contiene preferentemente un propelente adecuado a presión, tal como aire comprimido, dióxido de carbono o un propelente orgánico tal como un hidrofluorocarbono (HFC). Los propelentes de HFC adecuados incluyen 1,1,1,2,3,3,3-heptafluoropropano y 1,1,1,2-tetrafluoroetano. Las formas de dosificación en aerosol también pueden adoptar la forma de un atomizador de bomba. El aerosol presurizado puede contener una solución o una suspensión del compuesto activo. Esto puede requerir la incorporación de excipientes adicionales, por ejemplo, cosolventes y/o tensioactivos para mejorar las características de dispersión y la homogeneidad de las formulaciones en suspensión. Las formulaciones en solución también pueden requerir la adición de cosolventes tales como etanol.

Para las composiciones farmacéuticas adecuadas y/o adaptadas para la administración inhalada, la composición farmacéutica puede ser una composición inhalable en polvo seco. Una composición de este tipo puede comprender una base pulverulenta tal como lactosa, glucosa, trehalosa, manitol o almidón, el compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (preferentemente en forma de tamaño de partícula reducida, por ejemplo, en forma micronizada) y opcionalmente un modificador del rendimiento tal como L-leucina u otro aminoácido y/o sal metálica de ácido esteárico tal como estearato de magnesio o calcio. Preferentemente, la composición inhalable en polvo seco comprende una combinación en polvo seco de lactosa, por ejemplo, monohidrato de lactosa, y el compuesto de fórmula (I) o la sal del mismo. Dichas composiciones pueden administrarse al paciente usando un dispositivo adecuado, tal como el dispositivo DISKUS®, comercializado por GlaxoSmithKline que se describe, por ejemplo, en el documento GB 2242134 A.

Los compuestos de fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos pueden formularse como una formulación fluida para la entrega desde un dispensador de fluido, por ejemplo, un dispensador de fluido que tiene una boquilla u orificio de dispensación a través del cual se dispensa una dosis medida de la formulación fluida tras la aplicación de una fuerza aplicada por el usuario a un mecanismo de bombeo del dispensador de fluido. Dichos dispensadores de fluido generalmente están provistos de un depósito de múltiples dosis medidas de la formulación fluida, siendo las dosis dispensables tras accionamientos secuenciales de la bomba. La boquilla u orificio de dispensación puede estar configurada para la inserción en las fosas nasales del usuario para la dispensación por pulverización de la formulación fluida en la cavidad nasal. Un dispensador de fluido del tipo mencionado anteriormente se describe e ilustra en la Publicación de Solicitud de Patente Internacional N.º WO 2005/044354 A1.

Una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, dependerá de una serie de factores incluyendo, por ejemplo, la edad y el peso del paciente, la afección precisa que requiere tratamiento y su gravedad, la naturaleza de la formulación y la vía de administración, y será en última instancia a discreción del médico o veterinario a especialista. En la composición farmacéutica, cada unidad de dosificación para la administración oral o parenteral contiene preferentemente de 0,01 mg a 3000 mg, más preferentemente de 0,5 mg a 1000 mg, de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, calculada como base libre. Cada unidad de dosificación para la administración nasal o inhalada contiene preferentemente de 0,001 mg a 50 mg, más preferentemente de 0,01 mg a 5 mg, de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, calculada como base libre.

Los compuestos farmacéuticamente aceptables de fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, pueden administrarse en una dosis diaria (para un paciente adulto) de, por ejemplo, una dosis oral o parenteral de 0,01 mg a 3000 mg por día, de 0,5 mg a 1000 mg por día o de 100 mg a 2500 mg por día, o una dosis nasal o inhalada de 0,001 mg a 50 mg por día o de 0,01 mg a 5 mg por día, del compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, calculada como base libre. Esta cantidad puede proporcionarse en una única dosis por día o, más por lo general, en un número (tal como dos, tres, cuatro, cinco o seis) de subdosis por día de tal manera que la dosis diaria total sea la misma. Una cantidad eficaz de una sal del mismo, puede determinarse como una proporción de la cantidad eficaz del compuesto de fórmula (I) *per se*.

Los compuestos de fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos pueden emplearse solos o en combinación con otros agentes terapéuticos. Las terapias combinadas de acuerdo con la presente invención

comprenden, por lo tanto, la administración de al menos un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y el uso de al menos otro agente terapéuticamente activo. El compuesto o compuestos de fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, y el otro agente o agentes terapéuticamente activos pueden administrarse juntos en una única composición farmacéutica o por separado y, cuando se administran por separado, esto puede realizarse simultáneamente o secuencialmente en cualquier orden. Las cantidades del compuesto o compuestos de fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, y del otro agente o agentes terapéuticamente activos, así como los tiempos relativos de administración, se seleccionarán con el fin de conseguir el efecto terapéutico combinado deseado. Por lo tanto, en un aspecto adicional, se proporciona una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, junto con uno o más agentes terapéuticamente activos.

Por lo tanto, en un aspecto, el compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y las composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, de acuerdo con la invención puede usarse en combinación con o puede incluir uno o más agentes terapéuticos, por ejemplo, seleccionados entre antibióticos, antivíricos, glucocorticoesteroides, antagonistas muscarínicos, agonistas beta-2 y análogos de vitamina D3. En otra realización, un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo puede usarse en combinación con otro agente terapéutico adecuado para el tratamiento del cáncer. Se describen ejemplos de dichos agentes terapéuticos adicionales en *Cancer Principles and Practice of Oncology* de V.T. Devita y S. Hellman (editores), 6ª edición (2001), Lippincott Williams & Wilkins Publishers. Un experto en la materia sería capaz de discernir qué combinaciones de agentes serían útiles basándose en las características particulares de los fármacos y del cáncer en cuestión. Otros agentes terapéuticos que pueden usarse en combinación con el compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo incluyen, pero sin limitación, agentes antimicrotúbulos (tales como diterpenoides y alcaloides de la vinca); complejos de coordinación de platino; agentes alquilantes (tales como mostazas nitrogenadas, oxazafosforinas, alquilsulfonatos, nitrosoureas y triazenos); agentes antibióticos (tales como antraciclinas, actinomicinas y bleomicinas); inhibidores de la topoisomerasa II (tales como epipodofilotoxinas); antimetabolitos (tales como análogos de purina y pirimidina y compuestos antifolato); inhibidores de la topoisomerasa I (tales como camptotecinas; hormonas y análogos hormonales); inhibidores de la vía de transducción de señales (tales como inhibidores de receptores de la tirosina); inhibidores de la angiogénesis de tirosina cinasa no receptora; agentes inmunoterápicos (tales como inhibidores de PD-1, incluyendo nivolumab y pembrolizumab, e inhibidores de CTLA-4, incluyendo ipilimumab); agentes proapoptóticos; moduladores epigenéticos o transcripcionales (tales como inhibidores de la histona desacetilasa) e inhibidores de la señalización del ciclo celular.

Se apreciará que cuando el compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra en combinación con otros agentes terapéuticos normalmente administrados por vía inhalada, intravenosa, oral o intranasal, que la composición farmacéutica resultante pueda administrarse por las mismas vías. Como alternativa, los componentes individuales de la composición pueden administrarse por vías diferentes.

Será evidente para un experto en la materia que, cuando sea apropiado, el otro agente o agentes terapéuticos pueden usarse en forma de sales, por ejemplo, como sales de metales alcalinos o sales de amina o como sales de adición de ácidos, o profármacos, o como ésteres, por ejemplo, ésteres de alquilo inferior, o como solvatos, por ejemplo hidratos, para optimizar la actividad y/o la estabilidad y/o las características físicas, tales como solubilidad, del agente terapéutico. Será evidente también que, cuando sea apropiado, los agentes terapéuticos pueden usarse en forma ópticamente pura.

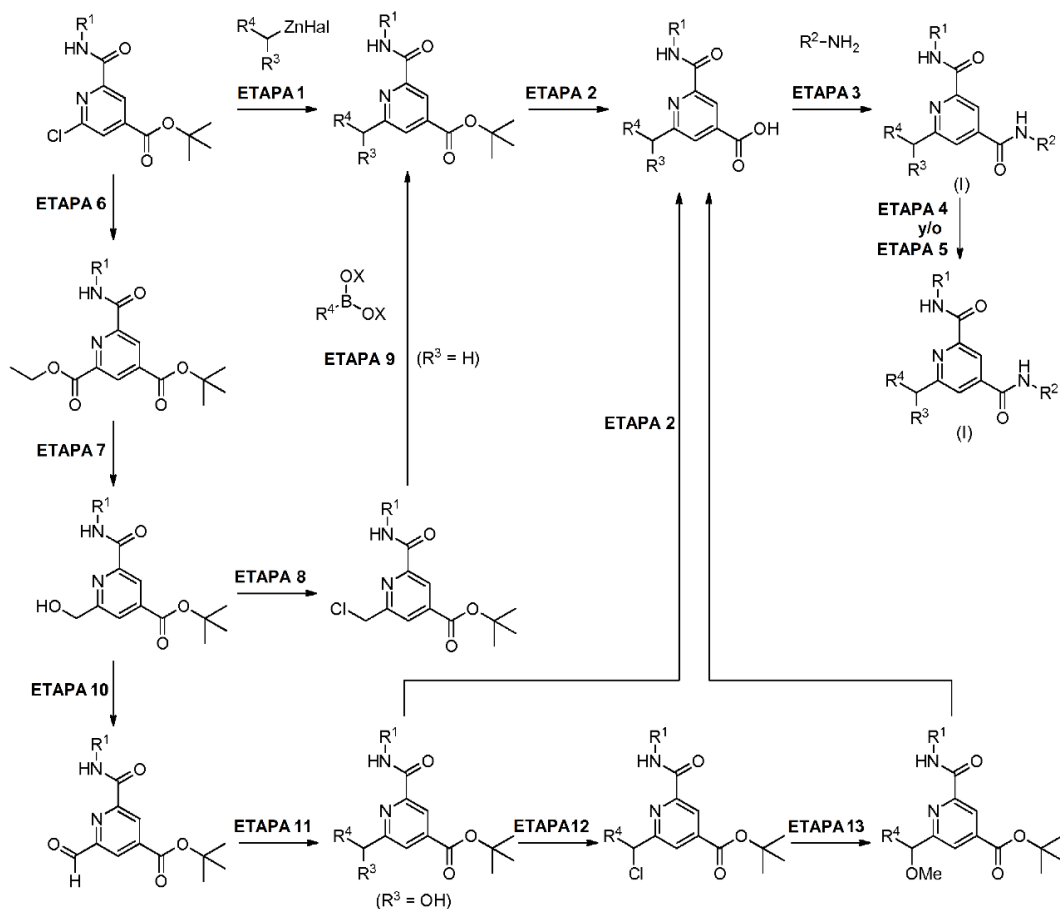
Las combinaciones mencionadas anteriormente pueden presentarse convenientemente para su uso en forma de una composición farmacéutica y, por lo tanto, las composiciones farmacéuticas que comprenden una combinación como la definida anteriormente junto con un excipiente farmacéuticamente aceptable representan un aspecto adicional de la invención.

VÍAS DE SÍNTESIS GENERALES

Los compuestos de la invención pueden prepararse mediante una diversidad de métodos. Cualquier variable definida anteriormente continuará teniendo el significado definido anteriormente a menos que se indique lo contrario. En los siguientes esquemas se establecen métodos de síntesis generales ilustrativos y pueden adaptarse fácilmente para preparar otros compuestos de la invención. Se preparan compuestos específicos de la invención en la sección de Ejemplos.

Los compuestos de fórmula (I) pueden prepararse como se describe en cualquiera de los Esquemas a continuación:

Esquema 1:



- 5 en donde R^1 , R^2 , R^3 y R^4 son como se han descrito anteriormente, Hal es cloro o bromo y X es H o está unido para formar un éster de boronato cíclico, tal como $-\text{C}(\text{Me})_2\text{C}(\text{Me})_2-$.

Con respecto a las etapas que se muestran en el Esquema 1 anterior, pueden utilizarse las siguientes condiciones de reacción:

- 10 Etapa 1: es un acoplamiento cruzado de Negishi y puede realizarse usando a haluro de bencilcinc de fórmula $\text{R}^4\text{CH}(\text{R}^3)\text{ZnHal}$, en presencia de un catalizador de paladio, tal como $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$, opcionalmente en presencia de un ligando de fosfina alternativo, en un disolvente adecuado, tal como THF, a una temperatura adecuada, tal como 70 °C.
- 15 Etapa 2: es una escisión de ésteres mediada por ácido y puede realizarse usando cualquier ácido adecuado, tal como TFA, opcionalmente en un disolvente adecuado, tal como DCM, a una temperatura adecuada, tal como la temperatura ambiente.
- 20 Etapa 3: es una reacción de acoplamiento de amida y puede realizarse usando un reactivo de amina, $\text{R}^2\text{-NH}_2$, en presencia de una amina terciaria adecuada, tal como trietilamina o DIPEA, en presencia de un reactivo de acoplamiento de amida adecuado, tal como HATU, en un disolvente adecuado, tal como DCM o DMF, a una temperatura adecuada, tal como la temperatura ambiente.
- 25 Etapa 4: es una etapa opcional de desprotección para retirar un grupo protector, tal como BOC y puede realizarse usando un ácido tal como TFA o HCl, en presencia de un disolvente adecuado, tal como DCM o 1,4-dioxano, a una temperatura adecuada, tal como la temperatura ambiente.
- 30 Etapa 5: es una separación quiral opcional, usando una columna de HPLC quiral adecuada y un sistema de disolventes adecuado.
- Etapa 6: es una reacción de carbonilación y puede realizarse usando un reactivo de alcohol, tal como EtOH, en presencia de una amina terciaria, tal como trietilamina, en presencia de un catalizador de paladio, tal como cloruro de $[(\text{R})\text{-}(+)\text{-}2,2\text{-bis}(\text{difenilfosfina})\text{-}1,1'\text{-binaftilo}]\text{paladio(II)}$, opcionalmente en presencia de un ligando de fosfina alternativo, en presencia de monóxido de carbono, en un disolvente adecuado, tal como DMF, a una temperatura adecuada, tal como 70 °C.
- Etapa 7: es una reducción y puede realizarse usando un agente reductor o una combinación de reactivos, tales como borohidruro de sodio y cloruro de calcio, en un disolvente o mezcla de disolventes adecuados, tales como

etanol y 2-MeTHF, a una temperatura adecuada, tal como 0 °C a temperatura ambiente.

Etapas 8: es una reacción de cloración y puede realizarse usando un reactivo de cloración, tal como cloruro de tionilo, en presencia de un disolvente adecuado, tal como DCM, a una temperatura adecuada, tal como la temperatura ambiente.

Etapas 9: es una reacción de acoplamiento cruzado, tal como un acoplamiento de Suzuki y puede realizarse usando una especie de arilmetal, tal como un ácido arilborónico o un éster de arilboronato, $R^4-B(OX)_2$ en presencia de un catalizador de paladio adecuado, tal como $PdCl_2(PPh_3)_2$, opcionalmente en presencia de un ligando de fosfina alternativo, en presencia de una base adecuada, tal como carbonato de potasio, en presencia de un disolvente o una mezcla de disolventes adecuados, tales como 1,4-dioxano y agua, a una temperatura adecuada, tal como 120 °C.

Etapas 10: es una oxidación y puede realizarse usando un oxidante adecuado, tal como peryodinano de Dess-Martin en un disolvente adecuado, tal como DCM, a una temperatura adecuada, tal como la temperatura ambiente.

Etapas 11: es una adición de Grignard a un aldehído, usando un reactivo de Grignard adecuado, tal como bromuro de fenilmagnesio, en un disolvente adecuado, tal como THF, a una temperatura adecuada, tal como 0 °C.

Etapas 12: es una reacción de sustitución de un alcohol con un haluro, tal como cloruro, usando un reactivo de cloración adecuado, tal como cloruro de tionilo, en un disolvente adecuado, tal como DCM, a una temperatura adecuada, tal como 0 °C.

Etapas 13: es una reacción de sustitución de un grupo saliente, tal como cloruro con un nucleófilo, tal como un grupo metoxi, usando un reactivo nucleófilo adecuado, tal como metanol, opcionalmente en presencia de un disolvente adecuado, a una temperatura adecuada, tal como la temperatura ambiente.

Los expertos en la materia apreciarán que puede ser ventajoso proteger uno o más grupos funcionales de los compuestos descritos anteriormente. Pueden encontrarse ejemplos de grupos protectores y los medios para su retirada en T. W. Greene 'Protective Groups in Organic Synthesis' (4ª edición, J. Wiley and Sons, 2006), que se incorpora en el presente documento por referencia ya que se refiere a dichos procedimientos.

Los grupos protectores de amina adecuados incluyen acilo (por ejemplo, acetilo, carbamato (por ejemplo, 2',2',2'-tricloroetoxicarbonilo, benciloxicarbonilo o t-butoxicarbonilo) y arilalquilo (por ejemplo, bencilo), que pueden retirarse por escisión mediada por ácido (por ejemplo, usando un ácido tal como ácido clorhídrico en 1,4-dioxano o ácido trifluoroacético en diclorometano) o de forma reductora (por ejemplo, hidrogenólisis de un grupo bencilo o benciloxicarbonilo o la retiradas reductora de un grupo 2',2',2'-tricloroetoxicarbonilo usando cinc en ácido acético), según sea apropiado. Otros grupos protectores de amina adecuados incluyen trifluoroacetilo ($-C(O)CF_3$), que puede retirarse por hidrólisis catalizada por base.

Se apreciará que en cualquiera de las vías descritas anteriormente, el orden preciso de las etapas de síntesis por las que se introducen los diversos grupos y restos en la molécula puede variar. El experto en la materia deberá asegurarse de que los grupos o restos introducidos en una etapa del proceso no se vean afectados por transformaciones y reacciones posteriores, y seleccionar el orden de las etapas de síntesis en consecuencia.

Para cualquiera de las reacciones o procesos descritos anteriormente en el presente documento, pueden emplearse métodos convencionales de calentamiento y enfriamiento, por ejemplo, baños de aceite regulados por temperatura o bloques calientes regulados por temperatura, y baños de hielo/sal o baños de hielo seco/acetona, respectivamente. Pueden usarse métodos convencionales de aislamiento, por ejemplo, la extracción a partir de o en disolventes acuosos o no acuosos. Pueden emplearse métodos convencionales de secado de disolventes orgánicos, soluciones o extractos, tales como la agitación con sulfato de magnesio anhidro o sulfato de sodio anhidro, o el paso a través de una frita hidrófoba. Según sea necesario pueden usarse métodos convencionales de purificación, por ejemplo, cristalización y cromatografía, por ejemplo, cromatografía de sílice o cromatografía de fase inversa. La cristalización puede realizarse usando disolventes convencionales tales como acetato de etilo, metanol, etanol o butanol, o mezclas acuosas de los mismos. Se apreciará que los tiempos de reacción y las temperaturas específicas pueden determinarse normalmente mediante técnicas de control de la reacción, por ejemplo, cromatografía en capa fina y CL-EM.

Detalles experimentales generales

Todas las temperaturas referidas están en °C.

Como se usan en el presente documento, los símbolos y convenciones utilizados en estos procesos, esquemas y ejemplos son coherentes con aquellos utilizados en la bibliografía científica contemporánea, por ejemplo, el *Journal of the American Chemical Society*. A menos que se indique lo contrario, todos los materiales de partida se obtuvieron de proveedores comerciales y se usaron sin purificación adicional. Específicamente, las siguientes abreviaturas pueden usarse en los ejemplos y en toda la memoria descriptiva:

Abreviaturas

ACD	Advanced Chemistry Development, Inc.
UMA	unidad de masa atómica
BOC/Boc	<i>tert</i> -butiloxicarbonilo

cart	cartucho
cat	catalizador
CSH	Tecnología híbrida de superficie cargada de agua
VC	volumen de columna
DCM	diclorometano
DIPEA	diisopropiletilamina
DMAP	4-dimetilaminopiridina
DMF	dimetilformamida
DMSO	dimetilsulfóxido
DMSO-d ₆	dimetilsulfóxido deuterado
dppf	1,1'- <i>bis</i> (difenilfosfino)ferroceno
h	hora u horas
HATU	hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)- <i>N,N,N,N'</i> -tetrametiluronio
IPA	alcohol isopropílico
Isolera	sistema de purificación ultrarrápida Biotage
CL	cromatografía de líquidos
CLEM	cromatografía de líquidos-espectrometría de masas
M	molar (concentración)
MDAP	cromatografía autopreparativa dirigida por masas
2-MeTHF	2-metil tetrahidrofurano
min	minuto o minutos
EM	espectrometría de masas
Ms-Cl	cloruro de metanosulfonilo
MTBE	metil <i>tert-butyl</i> éter
N	normal (concentración)
RMN	resonancia magnética nuclear
NUT	proteína nuclear en los testículos
osc	oscurecido
MFR	matraz de fondo redondo
Tr	tiempo de retención
ta	temperatura ambiente
sat	saturado
ICF	EFS con sorbente de intercambio de catión fuerte Isolute
s	segundo
SiO ₂	dióxido de silicio
SNAP	cartucho de cromatografía ultrarrápida Biotage (sílice)
SP4	sistema de purificación ultrarrápida Biotage
EFS	extracción en fase sólida
TFA	ácido trifluoroacético
THF	tetrahidrofurano
CCF	cromatografía de capa fina
T3P	anhídrido propilfosfónico
UPLC	cromatografía de líquidos de ultra rendimiento
UV	ultravioleta
p	peso

Los nombres de los siguientes compuestos se han obtenido usando el programa de denominación de compuestos "ACD Name Pro 6.02" o usando la funcionalidad de denominación de ChemDraw Ultra 12.0.

5 **Metodología de CLEM**

Método de ácido fórmico

Condiciones de CL

10 El análisis por UPLC se realizó en una columna Acquity UPLC CSH C18 (50 mm x 2,1 mm, d.i. 1,7 µm de diámetro de compactación) a 40 °C.

Los disolventes empleados fueron:

- 15
- A = solución de ácido fórmico al 0,1 % v/v en agua
 - B = solución de ácido fórmico al 0,1 % v/v en acetonitrilo

El gradiente empleado fue:

Tiempo (min)	Caudal (ml/min)	% de A	% de B
0	1	97	3
1,5	1	5	95
1,9	1	5	95
2,0	1	97	3

La detección de UV fue una señal sumada de la longitud de onda de 210 nm a 350 nm.

5

Condiciones de EM

EM: Aguas ZQ
 Modo de ionización: Electronebulización positiva y negativa de barrido alterno
 Intervalo de barrido: de 100 a 1000 UMA
 Tiempo de barrido: 0,27 s
 Retraso entre barridos: 0,10 s

Método de pH elevadoCondiciones de CL

10

El análisis por UPLC se realizó en una columna Acquity UPLC CSH C18 (50 mm x 2,1 mm, d.i. 1,7 µm de diámetro de compactación) a 40 °C.

Los disolventes empleados fueron:

15

A = hidrogenocarbonato de amonio 10 mM en agua ajustada a pH10 con solución de amoníaco
 B = acetonitrilo

El gradiente empleado fue:

Tiempo (min)	Caudal (ml/min)	% de A	% de B
0	1	97	3
0,05	1	97	3
1,5	1	5	95
1,9	1	5	95
2,0	1	97	3

20 La detección de UV fue una señal sumada de la longitud de onda de 210 nm a 350 nm.

Condiciones de EM

EM: Aguas ZQ
 Modo de ionización: Electronebulización positiva y negativa de barrido alterno
 Intervalo de barrido: de 100 a 1000 UMA
 Tiempo de barrido: 0,27 s
 Retraso entre barridos: 0,10 s

Método de TFA

25

Condiciones de CL

El análisis por UPLC se realizó en una columna Acquity UPLC CSH C18 (50 mm x 2,1 mm, d.i. 1,7 µm de diámetro de compactación) a 40 °C.

30

Los disolventes empleados fueron:

A = solución de ácido trifluoroacético al 0,1 % v/v en agua
 B = solución de ácido trifluoroacético al 0,1 % v/v en acetonitrilo

35

El gradiente empleado fue:

Tiempo (min)	Caudal (ml/min)	% de A	% de B
0	1	95	5
1,5	1	5	95
1,9	1	5	95
2,0	1	95	5

La detección de UV fue una señal sumada de la longitud de onda de 210 nm a 350 nm.

Condiciones de EM

EM:	Aguas ZQ
Modo de ionización:	Electronebulización positiva y negativa de barrido alterno
Intervalo de barrido:	de 100 a 1000 UMA
Tiempo de barrido:	0,27 s
Retraso entre barridos:	0,10 s

Métodos generales de purificación por MDAP

- 5 A continuación se enumeran ejemplos de métodos de cromatografía autopreparativa dirigida por masas (MDAP) que se han utilizado o pueden usarse en la purificación de compuestos.

10 MDAP (pH elevado). El análisis por HPLC se realizó en una columna Xselect CSH C18 (150 mm x 30 mm de d.i. 5 µm de diámetro de compactación) a temperatura ambiente, eluyendo con bicarbonato de amonio 10 mM en agua ajustada a pH 10 con solución de amoníaco (Disolvente A) y acetonitrilo (Disolvente B) usando un gradiente de elución de entre el 0 y el 100 % de disolvente B durante 15 o 25 min.

15 La detección de UV fue una señal promediada de la longitud de onda de 210 nm a 350 nm. Los espectros de masas se registraron en un espectrómetro de masas Waters ZQ usando electronebulización positiva y negativa de barrido alterno. Los datos de ionización se redondearon al número entero más cercano.

20 MDAP (Ácido fórmico). El análisis por HPLC se realizó en una columna Xselect CSH C18 (150 mm x 30 mm de d.i. 5 µm de diámetro de compactación) a temperatura ambiente, eluyendo con ácido fórmico al 0,1 % en agua (Disolvente A) y con ácido fórmico al 0,1 % en acetonitrilo (Disolvente B) usando un gradiente de elución de entre el 0 y el 100 % de disolvente B durante 15 o 25 min.

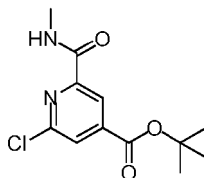
25 La detección de UV fue una señal promediada de la longitud de onda de 210 nm a 350 nm. Los espectros de masas se registraron en un espectrómetro de masas Waters ZQ usando electronebulización positiva y negativa de barrido alterno. Los datos de ionización se redondearon al número entero más cercano.

30 MDAP (TFA). El análisis por HPLC se realizó en una columna Xselect CSH C18 (150 mm x 30 mm de d.i. 5 µm de diámetro de compactación) a temperatura ambiente, eluyendo con una solución al 0,1 % v/v de ácido trifluoroacético en agua (Disolvente A) y una solución al 0,1 % v/v de ácido trifluoroacético en acetonitrilo (Disolvente B) usando un gradiente de elución de entre el 0 y el 100 % de disolvente B durante 15 o 25 min.

La detección de UV fue una señal promediada de la longitud de onda de 210 nm a 350 nm. Los espectros de masas se registraron en un espectrómetro de masas Waters ZQ usando electronebulización positiva y negativa de barrido alterno. Los datos de ionización se redondearon al número entero más cercano.

RMN

Los espectros se realizaron en una máquina de RMN de 400 MHz o de 600 MHz a 302 K o a 392-393 K para los espectros VT.

Intermedio 1: 2-Cloro-6-(metilcarbamoil)isonicotinato de *terc*-butilo

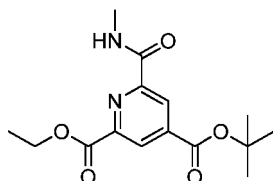
45 Se añadió 2,4,6-trióxido de 2,4,6-tripropil-1,3,5,2,4,6-trioxatrilfosfinano (40,7 g, 64,0 mmol) a una solución de ácido 4-(*terc*-butoxicarbonil)-6-cloropicolínico (15 g, 58,2 mmol, disponible en el mercado, por ejemplo, en Anichem) y Et₃N (16,23 ml, 116 mmol) en DCM (100 ml) a ta, después, la mezcla se agitó durante 20 min antes de la adición de metanamina (2 M en THF, 38,8 ml, 78 mmol). La mezcla se agitó durante 2 h, después se lavó con agua (100 ml) y solución saturada de bicarbonato de sodio, después se secó y se evaporó al vacío para proporcionar una goma de color amarillo pálido. Esto se disolvió en DCM y se cargó en una columna de sílice de 340 g, después se eluyó con EtOAc al 0-40 %/ciclohexano y las fracciones que contenían el producto se evaporaron al vacío para proporcionar 2-cloro-6-(metilcarbamoil)isonicotinato de *terc*-butilo (6,9 g, 25,5 mmol, rendimiento del 43,8 %) en forma de una goma de color amarillo pálido que cristalizó en reposo.

CLEM (2 min, pH elevado): Tr = 1,16 min, [MH]⁺ = 271,2.

55 RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃-d) δ ppm 8,55 (d, J = 1,2 Hz, 1 H) 7,95 (d, J = 1,2 Hz, 1 H) 7,79 (s a, 1 H) 3,05 (d, J =

4,9 Hz, 3 H) 1,61 (s, 9 H)

Intermedio 2: 2-Etil 6-(metilcarbamoil)piridin-2,4-dicarboxilato de 4-*terc*-butilo

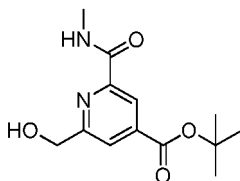


Se disolvió 2-cloro-6-(metilcarbamoil)isonicotinato de *terc*-butilo (4,2 g, 15,51 mmol) en una mezcla de DMF (50 ml) y etanol (50 ml), después se añadieron trietilamina (4,71 g, 46,5 mmol) y cloruro de [(*R*)-(+)-2,2'-bis(difenilfosfino)-1,1'-binaftil]paladio(II) (0,621 g, 0,78 mmol) y la mezcla se purgó con monóxido de carbono, después se selló y se colocó un globo lleno de monóxido de carbono. La mezcla se calentó a 70 °C durante el fin de semana, después se evaporó al vacío y el residuo se repartió entre agua (100 ml) y EtOAc (100 ml). La capa orgánica se lavó con agua (100 ml), se secó y se evaporó al vacío. El residuo de color pardo oscuro se purificó por cromatografía en una columna de sílice de 100 g eluyendo con EtOAc al 0-50 %/ciclohexano para proporcionar 2-etil 6-(metilcarbamoil)piridin-2,4-dicarboxilato de 4-*terc*-butilo (4,2 g, 13,62 mmol, rendimiento del 88 %) en forma de una goma de color amarillo pálido.

CLEM (2 min, pH elevado): Tr = 1,11 min, [MH]⁺ = 309,2.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃-d) δ ppm 8,80 (d, J = 1,5 Hz, 1 H), 8,67 (d, J = 1,7 Hz, 1 H), 8,08 (d a, J = 3,4 Hz, 1 H), 4,50 (c, J = 7,1 Hz, 2 H), 3,08 (d, J = 5,1 Hz, 3 H), 1,63 (s, 9 H), 1,46 (t, J = 7,1 Hz, 3 H)

Intermedio 3: 2-(Hidroximetil)-6-(metilcarbamoil)isonicotinato de *terc*-butilo

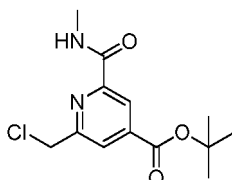


Se añadió cloruro de calcio (4,54 g, 40,9 mmol) a una solución de 2-etil 6-(metilcarbamoil)piridin-2,4-dicarboxilato de 4-*terc*-butilo (4,2 g, 13,62 mmol) en una mezcla de etanol (50 ml) y 2-MeTHF (50 ml) a 0 °C, después se añadió tetrahidrobórato de sodio (0,773 g, 20,43 mmol) y la mezcla de color rojo resultante se agitó durante 2 h dejando que la mezcla se calentara a ta. La mezcla se dejó reposar durante la noche, después se enfrió en un baño de hielo y se añadió lentamente una solución de cloruro de amonio (100 ml) durante 20 min. La mezcla se extrajo con EtOAc (2 x 150 ml), después los compuestos orgánicos se secaron y evaporaron al vacío y el residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílice de 50 g para proporcionar 2-(hidroximetil)-6-(metilcarbamoil)isonicotinato de *terc*-butilo (2,2 g, 8,26 mmol, rendimiento del 61 %) en forma de un sólido de color beige.

CLEM (2 min, pH elevado): Tr = 0,84 min, [MH]⁺ = 267,3.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃-d) δ ppm 8,49 - 8,58 (m, 1 H), 7,90 - 8,02 (m, 2 H), 4,87 (s, 2 H), 3,05 (d, J = 5,1 Hz, 3 H), 1,61 (s, 9 H). 1 protón intercambiable no observado.

Intermedio 4: 2-(Clorometil)-6-(metilcarbamoil)isonicotinato de *terc*-butilo

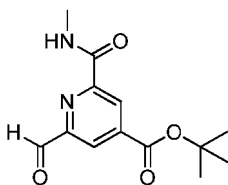


Se disolvió 2-(hidroximetil)-6-(metilcarbamoil)isonicotinato de *terc*-butilo (1,5 g, 5,63 mmol) en DCM (5 ml), se añadió dicloruro sulfuroso (1,26 ml, 16,90 mmol) y la reacción se agitó a ta durante 4 h, después, la mezcla se inactivó mediante la adición de una solución saturada de bicarbonato de sodio y la mezcla se agitó durante 20 min, después, la capa orgánica se separó, se secó y se evaporó al vacío para proporcionar 2-(clorometil)-6-(metilcarbamoil)isonicotinato de *terc*-butilo (1,35 g, 4,74 mmol, rendimiento del 84 %) en forma de un sólido incoloro.

CLEM (2 min, pH elevado): Tr = 1,13 min, [MH]⁺ = 285,2.

RMN de ^1H (400 MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}$) δ ppm 8,59 (d, $J = 1,2$ Hz, 1 H) 8,11 (d, $J = 1,2$ Hz, 1 H) 7,95 (s a, 1 H) 4,72 (s, 2 H) 3,07 (d, $J = 5,1$ Hz, 3 H) 1,62 (s, 9 H)

5 **Intermedio 5: 2-Formil-6-(metilcarbamoil)isonicotinato de *terc*-butilo**

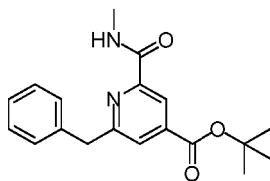


10 Se disolvió 2-(hidroximetil)-6-(metilcarbamoil)isonicotinato de *terc*-butilo (543 mg, 2,04 mmol) en DCM (5 ml). Se añadió peryodinano de Dess-Martin (1009 mg, 2,38 mmol) y la mezcla se agitó a ta durante 3 h. Se añadió tiosulfato de sodio a la mezcla de reacción y después se añadió también NaHCO_3 . La mezcla resultante se agitó durante 15 min. La fase acuosa se extrajo con DCM tres veces y las capas orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO_4 y se evaporaron. El producto en bruto se purificó por cromatografía sobre SiO_2 (Biotage SNAP 10 g, eluyendo con acetato de etilo al 0-50 %/ciclohexano). Las fracciones deseadas se concentraron para proporcionar 2-formil-6-(metilcarbamoil)isonicotinato de *terc*-butilo (501 mg, 1,71 mmol, rendimiento del 84 %) en forma de un aceite incoloro.

CLEM (2 min, ácido fórmico): Tr = 0,97 min, $[\text{MH}]^+ = 265,3$.

20 RMN de ^1H (400 MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}$) δ ppm 10,14 (s, 1 H), 8,88 (d, $J = 1,5$ Hz, 1 H), 8,55 (d, $J = 1,5$ Hz, 1 H), 8,00 (s a, 1 H), 3,12 (d, $J = 4,9$ Hz, 3 H), 1,62 - 1,66 (m, 9 H)

Intermedio 6: 2-Bencil-6-(metilcarbamoil)isonicotinato de *terc*-butilo

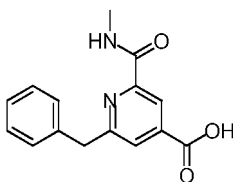


25 Se disolvieron 2-cloro-6-(metilcarbamoil)isonicotinato de *terc*-butilo (5 g, 18,47 mmol, disponible en el mercado, por ejemplo, en Anichem) y $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ (1,296 g, 1,85 mmol) en THF (50 ml) y se añadió bromuro de bencilcinc(II) (0,5 M en THF, 55,4 ml, 27,7 mmol), después, la mezcla se calentó a 70 °C durante 2 h. El disolvente se evaporó al vacío y el residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílice de 100 g eluyendo con EtOAc al 0-50 %/ciclohexano para proporcionar 2-bencil-6-(metilcarbamoil)isonicotinato de *terc*-butilo (5,7 g, 17,46 mmol, rendimiento del 95 %) en forma de un aceite de color pardo oscuro que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

CLEM (2 min, pH elevado): Tr = 1,30 min, $[\text{MH}]^+ = 327,3$.

35 RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 8,46 (d, $J = 1,2$ Hz, 1 H), 7,91 - 8,07 (m, 1 H), 7,78 (d, $J = 1,2$ Hz, 1 H), 7,28 - 7,34 (m, 2 H), 7,21 - 7,27 (m, 3 H), 4,21 (s, 2 H) 3,05 (d, $J = 5,1$ Hz, 3 H), 1,58 (s, 9 H)

Intermedio 7: Ácido 2-bencil-6-(metilcarbamoil)isonicotínico

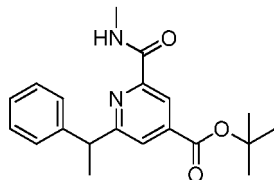


40 Se disolvió 2-bencil-6-(metilcarbamoil)isonicotinato de *terc*-butilo (2,5 g, 7,66 mmol) en DCM (30 ml), después se añadió TFA (10 ml, 130 mmol) y la mezcla se agitó durante 3 h a ta. El disolvente se evaporó al vacío para proporcionar una goma de color amarillo pálido. El material en bruto se disolvió en DCM (100 ml) y se lavó con agua (100 ml), la capa orgánica se secó y se evaporó al vacío para proporcionar ácido 2-bencil-6-(metilcarbamoil)isonicotínico (2,0 g, 7,40 mmol, rendimiento del 97 %) en forma de un sólido de color amarillo pálido

CLEM (2 min, pH elevado): Tr = 0,63 min, $[\text{MH}]^+ = 271,3$.

RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 13,76 (s a, 1 H), 8,73 (d, $J = 4,9$ Hz, 1 H), 8,24 (d, $J = 1,5$ Hz, 1 H), 7,83 (d, $J = 1,5$ Hz, 1 H), 7,34 - 7,39 (m, 2 H), 7,28 - 7,34 (m, 2 H), 7,19 - 7,25 (m, 1 H), 4,26 (s, 2 H), 2,87 (d, $J = 4,6$ Hz, 3 H)

Intermedio 8: 2-(Metilcarbamoil)-6-(1-feniletíl)isonicotinato de (+/-)-*terc*-butilo

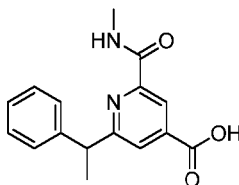


Se disolvió 2-cloro-6-(metilcarbamoil)isonicotinato de *terc*-butilo (0,5 g, 1,85 mmol) en THF (20 ml) y se añadió dicloruro de paladio *bis* trifenilfosfina (0,130 g, 0,19 mmol). La solución se roció con nitrógeno durante 5 min, después se añadió bromuro de (1-feniletíl)cinc(II) (0,5 M en THF, 7,39 ml, 3,69 mmol, disponible en el mercado, por ejemplo, en Sigma Aldrich) y la mezcla se calentó a 70 °C durante 2 h. La solución se diluyó con EtOAc (100 ml) y se lavó con agua (100 ml), se secó y se evaporó al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílice de 25 g eluyendo con EtOAc al 0-50 %/ciclohexano y las fracciones que contenían el producto se evaporaron al vacío para proporcionar 2-(metilcarbamoil)-6-(1-feniletíl)isonicotinato de *terc*-butilo (0,41 g, 1,20 mmol, rendimiento del 65 %) en forma de un aceite de color amarillo oscuro.

CLEM (2 min, pH elevado): Tr = 1,37 min, $[\text{MH}]^+ = 341,3$.

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3 - d) δ ppm 8,45 (d, $J = 1,5$ Hz, 1 H), 8,02 (s a, 1 H), 7,81 (d, $J = 1,2$ Hz, 1 H), 7,18 - 7,36 (m osc., 5 H), 4,38 (c, $J = 7,3$ Hz, 1 H), 3,07 (d, $J = 5,1$ Hz, 3 H), 1,74 (d, $J = 7,3$ Hz, 3 H), 1,59 (s, 9 H)

Intermedio 9: Ácido (+/-)-2-(metilcarbamoil)-6-(1-feniletíl)isonicotínico



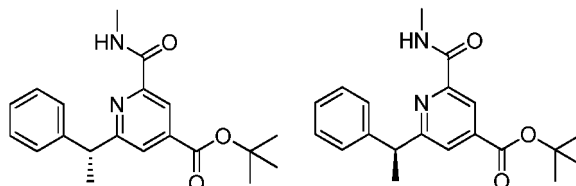
Se disolvió 2-(metilcarbamoil)-6-(1-feniletíl)isonicotinato de *terc*-butilo (0,41 g, 1,20 mmol) en TFA (6 ml) y la mezcla se agitó durante 3 h a ta, después, la mezcla se evaporó al vacío y el residuo se repartió entre agua (20 ml) y DCM (20 ml). La capa orgánica se secó y se evaporó al vacío para proporcionar ácido 2-(metilcarbamoil)-6-(1-feniletíl)isonicotínico (305 mg, 1,07 mmol, rendimiento del 89 %) en forma de una espuma de color gris.

CLEM (2 min, pH elevado): Tr = 0,69 min, $[\text{MH}]^+ = 285,2$.

RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 13,74 (s a, 1 H), 8,75 (m, $J = 4,9$ Hz, 1 H), 8,21 (d, $J = 1,5$ Hz, 1 H), 7,82 (d, $J = 1,5$ Hz, 1 H), 7,42 (d a, $J = 7,1$ Hz, 2 H), 7,30 (t, $J = 7,5$ Hz, 2 H), 7,16-7,23 (m, 1 H), 4,47 (c, $J = 7,1$ Hz, 1 H), 2,89 (d, $J = 4,9$ Hz, 3 H), 1,72 (d, $J = 7,3$ Hz, 3 H)

Intermedio 10: 2-(Metilcarbamoil)-6-(1-feniletíl)isonicotinato de (*R*)-*terc*-butilo

Intermedio 11: 2-(Metilcarbamoil)-6-(1-feniletíl)isonicotinato de (*S*)-*terc*-butilo



Se purificó 2-(metilcarbamoil)-6-(1-feniletíl)isonicotinato de (+/-)-*terc*-butilo (7,78 g) por HPLC quiral. El racemato se disolvió en EtOH (150 ml). Inyección: Se inyectaron 1,1 ml de la solución a través de un automuestreador preparativo, en la columna (EtOH al 20 %/heptano + isopropilamina al 0,2 %, caudal = 42,5 ml/min, longitud de onda de detección = 280 nm, ancho de banda 140 nm, referencia 400 nm ancho de banda 100 nm, Columna 30 mm x 25 cm Chiralcel OJ-H). Las fracciones de 11,2-13,7 min se agruparon y se etiquetaron como pico 1. Las fracciones de 15,7-19 min se agruparon y se etiquetaron como pico 2. Las fracciones agrupadas se concentraron al vacío y después se transfirieron a matraces ponderados.

Las fracciones que correspondían al pico 1 se recogieron para proporcionar **intermedio 10** (2,84 g)
CLEM (2 min, pH elevado): Tr = 1,35 min, [MH]⁺ = 341,3

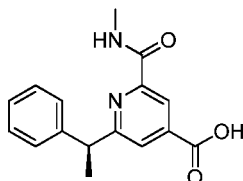
- 5 Las fracciones que correspondían al pico 2 se recogieron para proporcionar **intermedio 11** (2,80 g)

CLEM (2 min, pH elevado): Tr = 1,35 min, [MH]⁺ = 341,3

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 8,46 (d, J = 1,2 Hz, 1 H), 8,03 (s a, 1 H), 7,82 (d, J = 1,5 Hz, 1 H), 7,20 - 7,36 (m, 5 H), 4,39 (c, J = 7,2 Hz, 1 H), 3,08 (d, J = 5,1 Hz, 3 H), 1,76 (d, J = 7,1 Hz, 3 H), 1,60 (s, 9 H)

10

Intermedio 12: Ácido (S)-2-(metilcarbamoil)-6-(1-feniletil)isonicotínico



- 15 Una mezcla de 2-(metilcarbamoil)-6-(1-feniletil)isonicotinato de (S)-*terc*-butilo (2,19 g, 6,43 mmol, intermedio 11) y ácido trifluoroacético (10 ml, 130 mmol) en DCM (15 ml) se agitó a ta durante 19 h. Los compuestos volátiles se evaporaron de la mezcla al vacío y el residuo oleoso se redisolvió en acetonitrilo (aproximadamente 10 ml) y el disolvente se evaporó al vacío. Al residuo oleoso de color naranja se le añadió éter (aproximadamente 10 ml) y precipitó un sólido de color blanco. El sólido se filtró, se lavó con éter (2 x 5 ml) y se secó al vacío para proporcionar
- 20 el producto deseado en forma de un sólido de color blanco; Ácido (S)-2-(metilcarbamoil)-6-(1-feniletil)isonicotínico (1,18 g, 4,14 mmol, rendimiento del 64 %)

- El disolvente del licor madre del segundo lavado con éter se evaporó en una corriente de nitrógeno para proporcionar un segundo lote del producto deseado en forma de un sólido de color blanco; ácido (S)-2-(metilcarbamoil)-6-(1-feniletil)isonicotínico (95,6 mg, 0,336 mmol, rendimiento del 5,23 %)
- 25

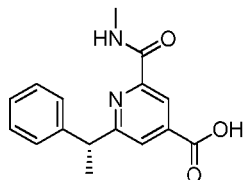
- El disolvente de los licores madre combinados de la trituration inicial y del primer lavado con éter se evaporaron en una corriente de nitrógeno y el aceite viscoso de color naranja resultante se trituro con éter (5 ml). El licor madre se retiró por decantación y el sólido se trituro con más éter (3 x 5 ml), decantando cada vez el licor madre. El sólido se secó al vacío para proporcionar un tercer lote del producto deseado en forma de un sólido de color crema, rendimiento; ácido (S)-2-(metilcarbamoil)-6-(1-feniletil)isonicotínico (310,8 mg, 1,09 mmol, rendimiento del 17 %)
- 30

- Los licores madre combinados del aislamiento del lote anterior se evaporaron en una corriente de nitrógeno y el sólido semicristalino de color naranja resultante se lavó con éter (3 ml). El licor madre se retiró por decantación y el sólido se trituro con más éter (3 x 3 ml), decantando cada vez el licor madre. El sólido se secó al vacío para proporcionar un cuarto lote del producto deseado en forma de un sólido de color crema (100,4 mg)
- 35

Producto total aislado sumado en los cuatro lotes = 1,68 g, 92 %.

- 40 CLEM (2 min, ácido fórmico): Tr = 1,00 min, [MH]⁺ = 285,3
RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 13,81 (s a, 1 H), 8,80 (c, J = 4,5 Hz, 1 H), 8,22 (s, 1 H), 7,83 (d, J = 1,5 Hz, 1 H), 7,43 (d, J = 7,1 Hz, 2 H), 7,27 - 7,34 (m, 2 H), 7,16 - 7,24 (m, 1 H), 4,48 (c, J = 7,3 Hz, 1 H), 2,90 (d, J = 4,9 Hz, 3 H), 1,73 (d, J = 7,3 Hz, 3 H)

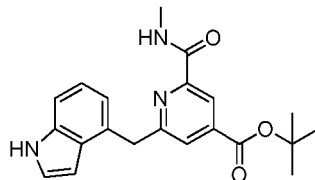
45 **Intermedio 13: Ácido (R)-2-(metilcarbamoil)-6-(1-feniletil)isonicotínico**



- Se recogió 2-(metilcarbamoil)-6-(1-feniletil)isonicotinato de (R)-*terc*-butilo (497 mg, 1,46 mmol, intermedio 10) en DCM (5 ml), se añadió TFA (0,5 ml, 6,49 mmol) y la reacción se dejó agitar a ta durante toda la noche. Se añadió TFA (0,5 ml, 6,49 mmol) de nuevo y la reacción se sometió a reflujo a 50 °C durante 3 h. Se añadió más TFA (1 ml) a la reacción, que después se dejó agitar durante 2 h adicionales. La reacción se concentró al vacío. La muestra se cargó en metanol y se purificó por EFS en ácido sulfónico (ICF, 2 g) y se eluyó con metanol. Las fracciones apropiadas se combinaron y se evaporaron al vacío para proporcionar el producto deseado (350 mg) en forma de un sólido de color rosa.
- 50
- 55

CLEM (2 min, pH elevado): Tr = 0,68 min, [MH]⁺ = 285,2.

Intermedio 14: 2-((1*H*-indol-4-il)metil)-6-(metilcarbamoil)isonicotinato de *terc*-butilo

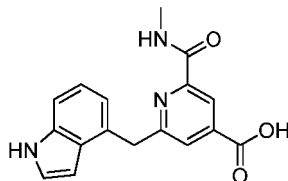


Se combinó 2-(clorometil)-6-(metilcarbamoil)isonicotinato de *terc*-butilo (100 mg, 0,35 mmol) con ácido (1*H*-indol-4-il)borónico (113 mg, 0,70 mmol), carbonato de potasio (291 mg, 2,107 mmol) y PdCl₂(dppf) (51,4 mg, 0,07 mmol) en 1,4-dioxano (1 ml) y agua (0,5 ml) en un vial de microondas de 2 ml. Esto se calentó a 120 °C durante 40 min. La solución se filtró a través de celite eluyendo con EtOAc (10 ml), después se secó y se concentró. El producto en bruto se purificó por cromatografía sobre SiO₂ (Biotage SNAP 10 g, eluyendo con acetato de etilo al 0-60 %/ciclohexano). Las fracciones deseadas se concentraron para proporcionar 2-((1*H*-indol-4-il)metil)-6-(metilcarbamoil)isonicotinato de *terc*-butilo (75,4 mg, 0,17 mmol, rendimiento del 47 %) en forma de un sólido de color blanco.

CLEM (2 min, ácido fórmico): Tr = 1,20 min, [MH]⁺ = 366,2.

RMN de ¹H (400 MHz, MeOH-d₄) δ ppm 8,30 (d, J = 1,2 Hz, 1 H), 7,76 (d, J = 1,2 Hz, 1 H), 7,31 (d, J = 8,3 Hz, 1 H), 7,21 (d, J = 3,2 Hz, 1 H), 7,03 - 7,11 (m, 1 H), 6,91 (d a, J = 7,1 Hz, 1 H), 6,47 (dd, J = 3,2, 0,7 Hz, 1 H), 4,52 (s, 2 H), 2,99 (s, 3 H), 1,54 (s, 9 H). *Intercambiables no observados*.

Intermedio 15: Ácido 2-((1*H*-indol-4-il)metil)-6-(metilcarbamoil)isonicotínico

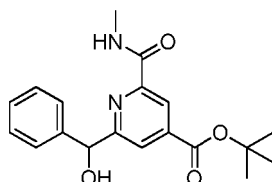


A una solución de 2-((1*H*-indol-4-il)metil)-6-(metilcarbamoil)isonicotinato de *terc*-butilo (75,4 mg, 0,17 mmol) en DCM (3 ml) se le añadió TFA (0,60 ml, 7,79 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a ta durante la noche. Se añadió TFA (0,3 ml, 0,17 mmol) adicional y la mezcla resultante se agitó durante 3 h. La mezcla de reacción se concentró al vacío para proporcionar ácido 2-((1*H*-indol-4-il)metil)-6-(metilcarbamoil)isonicotínico (184 mg, 0,15 mmol, rendimiento del 90 %, pureza del ~25 %).

CLEM (2 min, ácido fórmico): Tr = 0,88 min, [MH]⁺ = 310,1.

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 11,59 - 12,89 (m, 1 H), 11,11 (s a, 1 H), 8,76 (d, J = 4,9 Hz, 1 H), 8,19 (d, J = 1,2 Hz, 1 H), 7,71 (d, J = 1,5 Hz, 1 H), 7,21 - 7,39 (m, 2 H), 7,05 (t, J = 7,6 Hz, 1 H), 6,95 (d, J = 6,8 Hz, 1 H), 6,46 - 6,56 (m, 1 H), 4,48 (s, 2 H), 2,88 (d, J = 4,9 Hz, 3 H).

Intermedio 16: 2-(Hidroxifenil)metil)-6-(metilcarbamoil)isonicotinato de (+/-)-*terc*-butilo

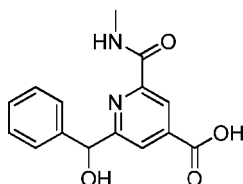


A una solución de 2-formil-6-(metilcarbamoil)isonicotinato de *terc*-butilo (118 mg, 0,45 mmol) en THF (1,5 ml) a 0 °C, se le añadió gota a gota bromuro de fenilmagnesio (1 M en THF, 2 ml, 2 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 2 h. La mezcla de reacción se vertió sobre una solución acuosa saturada de cloruro de amonio y se extrajo con EtOAc (20 ml x 3). La capa orgánica se secó sobre MgSO₄ y se concentró al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía sobre SiO₂ (Biotage SNAP 10 g, eluyendo con acetato de etilo al 0-60 %/ciclohexano). Las fracciones deseadas se concentraron para proporcionar 2-(hidroxifenil)metil)-6-(metilcarbamoil)isonicotinato de *terc*-butilo (43 mg, 0,11 mmol, rendimiento del 24 %).

CLEM (2 min, ácido fórmico): Tr = 1,09 min, [MH]⁺ = 343,3.

RMN de ¹H (400 MHz, MeOH-d₄) δ ppm 8,38 (d, J = 1,2 Hz, 1 H) 8,05 (d, J = 1,2 Hz, 1 H) 7,42-7,47 (m, 2 H) 7,22 - 7,36 (m, 3 H) 5,95 (s, 1 H) 2,99 (s, 3 H) 1,60 (s, 9 H). *Intercambiables no observados.*

Intermedio 17: Ácido (+/-)-2-(hidroxi(fenil)metil)-6-(metilcarbamoil)isonicotínico

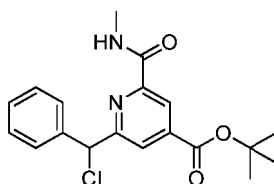


A una solución de 2-(hidroxi(fenil)metil)-6-(metilcarbamoil)isonicotinato de *terc*-butilo (43 mg, 0,13 mmol) en DCM (0,5 ml) se le añadió TFA (0,4 ml, 5,19 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 2 h y después durante la noche. Se añadió TFA (0,4 ml, 0,13 mmol) adicional y la mezcla de reacción se agitó durante 5 h, después el disolvente se retiró para proporcionar ácido 2-(hidroxi(fenil)metil)-6-(metilcarbamoil)isonicotínico (47,9 mg, 0,12 mmol, rendimiento de 93 %, pureza del 70 %) que se usó directamente en la siguiente etapa.

CLEM (2 min, ácido fórmico): Tr = 0,74 min, [MH]⁺ = 287,1.

RMN de ¹H (400 MHz, MeOH-d₄) δ ppm 8,45 (d, J = 1,2 Hz, 1 H), 8,10 (d, J = 1,5 Hz, 1 H), 7,41-7,48 (m, 2 H), 7,21 - 7,38 (m, 3 H), 5,97 (s, 1 H), 2,99 (s, 3 H). *Intercambiables no observados.*

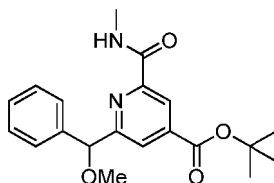
Intermedio 18: 2-(Cloro(fenil)metil)-6-(metilcarbamoil)isonicotinato de (+/-)-*terc*-butilo



A una solución de 2-(hidroxi(fenil)metil)-6-(metilcarbamoil)isonicotinato de *terc*-butilo (46 mg, 0,13 mmol) en DCM (4 ml) a 0 °C, se le añadió gota a gota cloruro de tionilo (30 µl, 0,41 mmol). La mezcla de reacción después se agitó a temperatura ambiente durante 12 h. Se añadió cloruro de tionilo (50 µl, 0,69 mmol) y la mezcla resultante se agitó durante 5 h y se concentró al vacío para proporcionar 2-(cloro(fenil)metil)-6-(metilcarbamoil)isonicotinato de *terc*-butilo (54 mg) que se usó sin purificación en la reacción posterior.

CLEM (2 min, ácido fórmico): Tr = 1,33 min, [MH]⁺ = 361,1

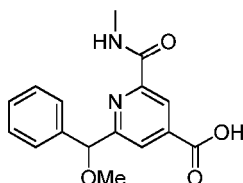
Intermedio 19: 2-(Metoxi(fenil)metil)-6-(metilcarbamoil)isonicotinato de (+/-)-*terc*-butilo



Una solución de 2-(cloro(fenil)metil)-6-(metilcarbamoil)isonicotinato de *terc*-butilo (54 mg, 0,15 mmol) en metanol (5 ml) se agitó durante el fin de semana. Después, la mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 1 h inicialmente, después 4 h y por último toda la noche. Después, la mezcla de reacción se concentró al vacío. El producto en bruto resultante se purificó por cromatografía de sílice ultrarrápida (cartucho SNAP de 10 g, eluyente: acetato de etilo al 0-50 %/ciclohexano). Las fracciones deseadas se combinaron y se concentraron al vacío para proporcionar 2-(metoxi(fenil)metil)-6-(metilcarbamoil)isonicotinato de *terc*-butilo (33 mg, 0,08 mmol, rendimiento del 56 %) en forma de un aceite incoloro.

CLEM (2 min, ácido fórmico): Tr = 1,26 min, [MH]⁺ = 357,2.

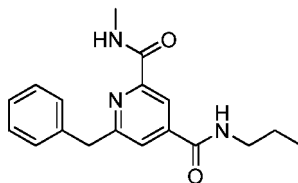
RMN de ¹H (400 MHz, MeOH-d₄) δ ppm 8,38 (d, J = 1,5 Hz, 1 H), 8,10 (d, J = 1,5 Hz, 1 H), 7,44 (d, J = 7,3 Hz, 2 H), 7,30 - 7,38 (m, 2 H), 7,23 - 7,30 (m, 1 H), 5,54 (s, 1 H), 3,44 (s, 3 H), 2,98 (s, 3 H), 1,61 (s, 9 H). *Protón intercambiable no observado.*

Intermedio 20: Ácido (+/-)-2-(metoxi(fenil)metil)-6-(metilcarbamoil)isonicotínico

A una solución de 2-(metoxi(fenil)metil)-6-(metilcarbamoil)isonicotinato de *tert*-butilo (33 mg, 0,09 mmol) en DCM (1 ml) se le añadió ácido 2,2,2-trifluoroacético (0,5 ml, 6,49 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante la noche. Después, esto se lavó con agua y se extrajo con DCM tres veces, después se secó. El disolvente se retiró al vacío para proporcionar ácido 2-(metoxi(fenil)metil)-6-(metilcarbamoil)isonicotínico (44,9 mg, 0,09 mmol, rendimiento del 97 %, ~pureza del 60 %)

CLEM (2 min, ácido fórmico): Tr = 0,91 min, [MH]⁺ = 301,1

RMN de ¹H (400 MHz, MeOH-d₄) δ ppm 8,45 (d, J = 1,2 Hz, 1 H), 8,17 (d, J = 1,5 Hz, 1 H), 7,98 (s a, 1 H), 7,42 - 7,49 (m, 2 H), 7,31 - 7,38 (m, 2 H), 7,27 (m, J = 7,3 Hz, 1 H), 5,55 (s, 1 H), 3,45 (s, 3 H), 2,99 (d, J = 3,2 Hz, 3 H). 1 protón intercambiable no observado.

Ejemplos:**Ejemplo 1: 6-Bencil-N²-metil-N⁴-propilpiridin-2,4-dicarboxamida**

Se agitaron ácido 2-bencil-6-(metilcarbamoil)isonicotínico (50 mg, 0,19 mmol), HATU (105 mg, 0,28 mmol), DIPEA (0,1 ml, 0,57 mmol), propan-1-amina (0,03 ml, 0,37 mmol) y DMF (1 ml) a ta en N₂. Después de agitar durante 45 min, la solución se concentró para proporcionar un aceite de color naranja (250 mg). Esto se purificó por cromatografía sobre SiO₂ (cartucho Biotage SNAP 25 g, eluyendo con etilacetato al 30-100 %/ciclohexano. Las fracciones apropiadas se concentraron para proporcionar 6-bencil-N²-metil-N⁴-propilpiridin-2,4-dicarboxamida (28 mg, 0,081 mmol, rendimiento del 44 %) en forma de un aceite incoloro. CLEM (2 min, ácido fórmico): Tr = 0,98 min, [MH]⁺ = 312,0.

Los siguientes ejemplos se prepararon de manera similar al **ejemplo 1** a partir de **intermedio 7**, ácido 2-bencil-6-(metilcarbamoil)isonicotínico y el monómero de amina apropiado disponible en el mercado, para proporcionar los ejemplos enumerados.

Ejemplos

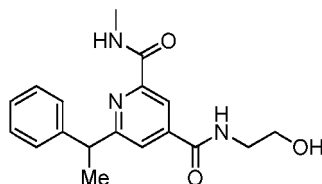
N.º de Ej.	Nombre	Estructura	Masa (mg)	Rendimiento (%)	[MH] ⁺	Tr (min)
2	6-Bencil-N ² ,N ⁴ -dimetilpiridina-2,4-dicarboxamida		74,8	89	284,1	0,83 (ácido fórmico)
3	(+/-)-6-Bencil-N ⁴ -(3-hidroxibutil)-N ² -metil piridin-2,4-dicarboxamida		10,6	28	342	0,83 (pH elevado)
4	N ⁴ -(2-(1H-imidazol-5-il)etil)-6-bencil-N ² -metil piridin-2,4-dicarboxamida		10,5	26	364	0,56 (pH elevado)
5	6-Bencil-N ⁴ -(3-hidroxiopropil)-N ² -metilpiridin-2,4-dicarboxamida		9,1	25	328	0,79 (pH elevado)
7	6-Bencil-N ⁴ -(3-metoxipropil)-N ² -metil piridin-2,4-dicarboxamida		11,7	31	342	0,91 (pH elevado)

(continuación)

N.º de Ej.	Nombre	Estructura	Masa (mg)	Rendimiento (%)	[MH] ⁺	Tr (min)
8	N ⁴ -(2-(1 <i>H</i> -Pirazol-3-il)etil)-6-bencil-N ² -metil piridin-2,4-dicarboxamida		11,2	25	364	0,82 (pH elevado)
9	6-Bencil-N ⁴ -isopentil-N ² -metil piridin-2,4-dicarboxamida		61,6	90	340,3	1,15 (pH elevado)
10	6-Bencil-N ² -metil-N ⁴ -(oxazol-2-il)piridin-2,4-dicarboxamida		40,3	61	337,2	0,87 (ácido fórmico)
13	6-Bencil-N ² -metil-N ⁴ -(1 <i>H</i> -pirazol-5-il)piridin-2,4-dicarboxamida		23,1	36	336,3	0,88 (pH elevado)
20	N ⁴ -((1 <i>H</i> -Pirazol-3-il)metil)-6-bencil-N ² -metil piridin-2,4-dicarboxamida		8,7	13	350,2	0,83 (ácido fórmico)

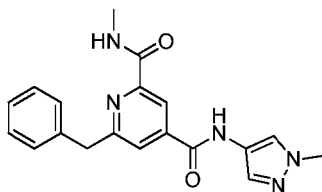
(continuación)

N.º de Ej.	Nombre	Estructura	Masa (mg)	Rendimiento (%)	[MH] ⁺	Tr (min)
24	6-Bencil-N ² -metil-N ⁴ -((1-metil-1H-pirazol-4-il)metil)piridin-2,4-dicarboxamida		80	57	364,3	0,88 (pH elevado)
28	6-Bencil-N ² -metil-N ⁴ -(1-metil-1H-pirazol-3-il)piridin-2,4-dicarboxamida		63,8	91	350,3	0,94 (pH elevado)
30	6-Bencil-N ⁴ -(3,3-dietoxipropil)-N ² -metilpiridin-2,4-dicarboxamida		91,3	79	400,4	1,08 (pH elevado)
34	6-Bencil-N ⁴ -(4,4-dietoxibutil)-N ² -metil piridin-2,4-dicarboxamida		651	82	368,3	1,08 (ácido fórmico)
51	3-Bencil-N ⁴ -(1-(2-hidroxietil)-1H-pirazol-3-il)-N ² -metil piridin-2,4-dicarboxamida		40,5	56	380,4	0,86 (pH elevado)

Ejemplo 6: (+/-)-N⁴-(2-Hidroxietil)-N²-metil-6-(1-feniletíl)piridin-2,4-dicarboxamida

- 5 Se recogió ácido 2-(metilcarbamoyl)-6-(1-feniletíl)isonicotínico (50 mg, 0,18 mmol) en DMF (2 ml), se añadió DIPEA (0,092 ml, 0,53 mmol), seguido poco después de HATU (100 mg, 0,26 mmol) y la reacción se dejó agitar a ta durante 10 min. Se añadió 2-aminoetanol (0,011 ml, 0,18 mmol) y la reacción se dejó agitar durante 1 h. La mezcla se concentró al vacío. El residuo se disolvió en acetato de etilo (10 ml) antes de lavarlo con una solución de bicarbonato de sodio (10 ml). La capa acuosa se lavó con acetato de etilo (10 ml). Las capas orgánicas combinadas después se lavaron con salmuera (10 ml) antes de secarlas sobre sulfato de sodio y filtrarlas a través de una fritta hidrófoba. Después, la reacción se concentró al vacío. El producto en bruto se disolvió en MeOH:DMSO 1:1 (0,8 ml) y se purificó por MDAP (pH elevado). El MDAP no consiguió recoger los productos y, en cambio, el producto se recogió con el disolvente de desecho. El material de desecho se evaporó al vacío. El producto en bruto se disolvió en DMSO y MeOH 1:1 (0,3 ml) y se purificó por MDAP (pH elevado). El disolvente se evaporó al vacío para proporcionar el compuesto del título (5,9 mg).

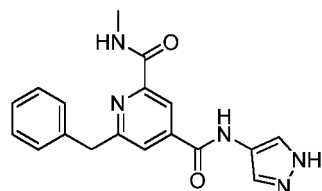
CLEM (2 min, pH elevado): Tr = 0,87 min, [MH]⁺ = 328,2.

Ejemplo 11: 6-Bencil-N²-metil-N⁴-(1-metil-1H-pirazol-4-il)piridin-2,4-dicarboxamida

- A una mezcla de 1-metil-1H-pirazol-4-amina, clorhidrato (33,0 mg, 0,25 mmol), HATU (92,8 mg, 0,24 mmol) y DIPEA (0,100 ml, 0,57 mmol) en DMF (1 ml) se le añadió ácido 2-bencil-6-(metilcarbamoyl)isonicotínico (50,9 mg, 0,19 mmol). Esta mezcla se agitó a ta durante 30 min. La mezcla se evaporó en una corriente de nitrógeno y el sólido pegajoso de color pardo oscuro resultante se redisolvió en DMSO (2 ml) y se purificó directamente por MDAP (inyección de 2 x 1 ml, pH elevado). Las fracciones requeridas (fracción 1 para ambas ejecuciones) se evaporaron en una corriente de nitrógeno, se redisolvieron en metanol (aprox. 2 ml) y diclorometano (aprox. 2 ml) y se combinaron. Esta solución se evaporó en una corriente de nitrógeno y el residuo se secó al vacío para proporcionar el producto deseado en forma de un sólido vítreo de color rosa claro - 6-bencil-N²-metil-N⁴-(1-metil-1H-pirazol-4-il)piridin-2,4-dicarboxamida (51,9 mg, 0,15 mmol, rendimiento del 79 %).

CLEM (2 min, pH elevado): Tr = 0,91 min, [MH]⁺ = 350,3.

- 35 RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 10,89 (s, 1 H) 8,78 (c a, *J* = 4,6, 4,6, 4,6 Hz, 1 H), 8,39 (s, 1 H), 8,04 (s, 1 H), 7,90 (d, *J* = 0,7 Hz, 1 H), 7,59 (s, 1 H) 7,38 (d a, *J* = 6,8 Hz, 2 H), 7,32 (t, *J* = 7,5 Hz, 2 H), 7,22 (t a, *J* = 7,3, 7,3 Hz, 1 H), 4,25 (s, 2 H), 3,82 (s, 3 H), 2,88 (d, *J* = 4,9 Hz, 3 H)

Ejemplo 12: 6-Bencil-N²-metil-N⁴-(1H-pirazol-4-il)piridin-2,4-dicarboxamida

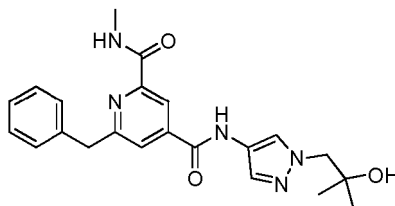
- A una mezcla de ácido 2-bencil-6-(metilcarbamoyl)isonicotínico (251,8 mg, 0,93 mmol) y HATU (565,5 mg, 1,49 mmol) se le añadió clorhidrato de 1H-pirazol-4-amina (166,0 mg, 1,39 mmol) y DMF (4 ml). Se añadió DIPEA (0,570 ml, 3,26 mmol) y la mezcla se agitó a ta durante 3,5 h. La mezcla se concentró en una corriente de nitrógeno y después se diluyó con acetonitrilo a un volumen total de 5 ml y se purificó directamente por MDAP (inyección de 5 x 1 ml; pH elevado) y las fracciones requeridas (fracción 1 de cada ejecución) se evaporaron en una corriente de nitrógeno. Cada uno de los residuos se redisolvió en metanol (~ 5 ml), se combinaron en un vial alquitranado y el disolvente se evaporó

en una corriente de nitrógeno para proporcionar un sólido de color amarillo pálido - 6-bencil-N²-metil-N⁴-(1*H*-pirazol-4-il)piridin-2,4-dicarboxamida (198,9 mg, 0,59 mmol, rendimiento del 64 %)

CLEM (2 min, pH elevado): Tr = 0,85 min, [MH]⁺ = 336,1.

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 12,71 (s a, 1 H), 10,88 (s, 1 H), 8,78 (c, J = 4,5 Hz, 1 H), 8,40 (d, J = 1,5 Hz, 1 H), 8,02 (s a, 1 H), 7,90 (d, J = 1,5 Hz, 1 H), 7,70 (s a, 1 H), 7,36 - 7,41 (m, 2 H), 7,29 - 7,36 (m, 2 H), 7,19 - 7,26 (m, 1 H), 4,25 (s, 2 H), 2,88 (d, J = 4,9 Hz, 3 H)

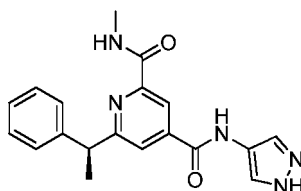
Ejemplo 80: 6-Bencil-N⁴-(1-(2-hidroxi-2-metilpropil)-1*H*-pirazol-4-il)-N²-metilpiridin-2,4-dicarboxamida



A un vial sellado para microondas que contenía hidruro de sodio (dispersión al 60 % en aceites minerales, 14,9 mg, 0,37 mmol) y 6-bencil-N²-metil-N⁴-(1*H*-pirazol-4-il)piridin-2,4-dicarboxamida (58,9 mg, 0,18 mmol) se le añadió DMF (1 ml). La mezcla se agitó en una atmósfera de nitrógeno a ta durante 30 min antes de añadir 2,2-dimetiloxirano (0,019 ml, 0,21 mmol) y la mezcla se agitó a ta durante 35 min. El tapón de microondas se reemplazó por uno nuevo y la mezcla se calentó en un reactor de microondas a 60 °C durante 30 min. El tapón de microondas se reemplazó por uno nuevo y la mezcla se calentó en un reactor de microondas a 80 °C durante 30 min. Se añadió metanol (0,5 ml) para interrumpir la reacción y la solución de color naranja resultante se purificó directamente por MDAP (inyección de 2 x 1 ml, ácido fórmico). Las fracciones requeridas (fracción 1 de ambas ejecuciones) se evaporaron en una corriente de nitrógeno, los residuos se disolvieron en diclorometano (~10 ml), se combinaron y se transfirieron a un vial alquitranado antes de que el disolvente se evaporara en una corriente de nitrógeno y se secara al vacío para proporcionar el producto deseado en forma de un cristal incoloro, 6-bencil-N⁴-(1-(2-hidroxi-2-metilpropil)-1*H*-pirazol-4-il)-N²-metilpiridin-2,4-dicarboxamida (14,0 mg, 0,03 mmol, rendimiento del 20 %)

CLEM (2 min, pH elevado): Tr = 0,89 min, [MH]⁺ = 408,6.

Ejemplo 16: (S)-N²-Metil-6-(1-feniletíl)-N⁴-(1*H*-pirazol-4-il)piridin-2,4-dicarboxamida



A una mezcla de ácido (S)-2-(metilcarbamoil)-6-(1-feniletíl)isonicotínico (80,5 mg, 0,28 mmol) y HATU (172,0 mg, 0,45 mmol) se le añadió clorhidrato de 1*H*-pirazol-4-amina (51,6 mg, 0,43 mmol) y DMF (1,8 ml). Se añadió DIPEA (0,173 ml, 0,99 mmol) y la mezcla se agitó a ta durante 2 h. La mezcla se concentró en una corriente de nitrógeno y se diluyó con acetonitrilo a un volumen total de 2 ml y se purificó directamente por MDAP (inyección de 2 x 1 ml; ácido fórmico) y las fracciones requeridas (fracción 1 de ambas ejecuciones) se combinaron y se evaporaron al vacío. El residuo se redisolvió en metanol (~6 ml) y se transfirió a un vial alquitranado, el disolvente se evaporó en una corriente de nitrógeno y el residuo se secó al vacío para proporcionar el producto deseado en forma de un sólido de color amarillo, (S)-N²-metil-6-(1-feniletíl)-N⁴-(1*H*-pirazol-4-il)piridin-2,4-dicarboxamida (87,5 mg, 0,25 mmol, 88 % de rendimiento)

CLEM (2 min, ácido fórmico): Tr = 0,91 min, [MH]⁺ = 350,3.

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 10,87 (s, 1 H) 8,80 (d, J = 4,2 Hz, 1 H), 8,38 (s, 1 H) 7,80 - 7,96 (m, 3 H), 7,43 (d, J = 7,6 Hz, 2 H), 7,31 (t, J = 7,2 Hz, 2 H), 7,13 - 7,25 (m, 1 H), 4,45 (c, J = 6,6 Hz, 2 H), 2,91 (d, J = 3,9 Hz, 3 H), 1,74 (d, J = 6,8 Hz, 3 H)

Los siguientes ejemplos se prepararon de una manera similar a la del **ejemplo 16** a partir de **intermedio 12**, ácido (S)-2-(metilcarbamoil)-6-(1-feniletíl)isonicotínico y el monómero de amina apropiado disponible en el mercado, para proporcionar los ejemplos enumerados.

Ejemplos

N.º de Ej.	Nombre	Estructura	Masa (mg)	Rendimiento (%)	[MH] ⁺	Tr (min)
14	(S)-N ² -Metil-N ⁴ -(1-metil-1H-pirazol-4-il)-6-(1-feniletil)piridin-2,4-dicarboxamida		55,4	92	364,4	0,98 (pH elevado)
15	(S)-N ² -Metil-6-(1-feniletil)-N ⁴ -(1H-pirazol-3-il)piridin-2,4-dicarboxamida		14,9	27	350,3	0,95 (pH elevado)
17	(S)-N ² -Metil-6-(1-feniletil)-N ⁴ -(2-(piridin-2-il)etil)piridin-2,4-dicarboxamida		63,7	89	389,4	1,01 (pH elevado)
18	(S)-N ² -Metil-6-(1-feniletil)-N ⁴ -(2-(piridin-3-il)etil)piridin-2,4-dicarboxamida		56,9	82	389,4	0,98 (pH elevado)
19	(S)-N ⁴ -(2-(1H-Pirazol-4-il)etil)-N ² -metil-6-(1-feniletil)piridin-2,4-dicarboxamida		45,4	68	378,4	0,92 (pH elevado)

(continuación)

N.º de Ej.	Nombre	Estructura	Masa (mg)	Rendimiento (%)	[MH] ⁺	Tr (min)
22	(S)-N ² -Metil-N ⁴ -(2-(1-metil-1 <i>H</i> -pirazol-3-il)etil)-N ² -metil-6-(1-feniletíl)piridin-2,4-dicarboxamida		52,8	78	392,4	0,96 (pH elevado)
23	(S)-N ⁴ -(2-(1 <i>H</i> -Pirazol-5-il)etil)-N ² -metil-6-(1-feniletíl)piridin-2,4-dicarboxamida		47	70	378,4	0,93 (pH elevado)
25	(S)-N ² -Metil-N ⁴ -(1-metil-1 <i>H</i> -pirazol-3-il)-6-(1-feniletíl)piridin-2,4-dicarboxamida		61,5	98	364,3	0,98 (ácido fórmico)
26	(S)-N ⁴ -(2-(1 <i>H</i> -1,2,3-Triazol-1-il)etil)-N ² -metil-6-(1-feniletíl)piridin-2,4-dicarboxamida		54,9	100	379,4	0,89 (pH elevado)
27	(S)-N ⁴ -(2-(1 <i>H</i> -Pirazol-1-il)etil)-N ² -metil-6-(1-feniletíl)piridin-2,4-dicarboxamida		50,8	89	378,4	0,96 (pH elevado)

(continuación)

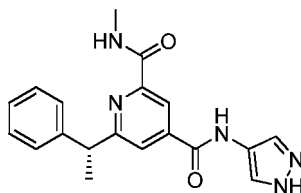
N.º de Ej.	Nombre	Estructura	Masa (mg)	Rendimiento (%)	[MH] ⁺	Tr (min)
29	(S)-N ⁴ -(2-(isoxazol-4-il)etil)-N ² -metil-6-(1-feniletil)piridin-2,4-dicarboxamida		47,9	87	379,4	1,00 (pH elevado)
31	(S)-N ² -Metil-6-(1-feniletil)-N ⁴ -(piridazin-4-il)piridin-2,4-dicarboxamida		22,3	49	362,3	0,90 (ácido fórmico)
32	(S)-N ² -Metil-N ⁴ -(1-metil-1H-1,2,4-triazol-3-il)-6-(1-feniletil)piridin-2,4-dicarboxamida		14,7	28	365,3	0,84 (ácido fórmico)
33	(S)-N ² -Metil-N ⁴ -(2-(4-metiltiazol-5-il)etil)-6-(1-feniletil)piridin-2,4-dicarboxamida		30	52	409,4	1,01 (ácido fórmico)
35	(S)-N ² -Metil-6-(1-feniletil)-N ⁴ -(2-(tiazol-4-il)etil)piridin-2,4-dicarboxamida		25	52	395,3	0,98 (ácido fórmico)

(continuación)

N.º de Ej.	Nombre	Estructura	Masa (mg)	Rendimiento (%)	[MH] ⁺	Tr (min)
39	(S)-N ² -Metil-N ⁴ -(2-(4-metil-4H-1,2,4-triazol-3-il)etil)-6-(1-feniletíl)piridin-2,4-dicarboxamida		96,5	99	393,4	0,74 (ácido fórmico)
40	(S)-N ² -Metil-N ⁴ -(2-(5-metil-1,3,4-oxadiazol-2-il)etil)-6-(1-feniletíl)piridin-2,4-dicarboxamida		35	63	394,4	1,00 (pH elevado)
41	(S)-N ² -Metil-N ⁴ -((1-metil-1H-pirazol-3-il)metil)-6-(1-feniletíl)piridin-2,4-dicarboxamida		32	60	378,4	0,96 (pH elevado)
42	(S)-N ⁴ -(1-(2-Hidroxietil)-1H-pirazol-4-il)-N ² -metil-6-(1-feniletíl)piridin-2,4-dicarboxamida		26,8	40	394,4	0,88 (ácido fórmico)
43	(S)-N ² -Metil-6-(1-feniletíl)-N ⁴ -(pirimidin-5-il)piridin-2,4-dicarboxamida		23,8	45	362,3	0,97 (pH elevado)

(continuación)

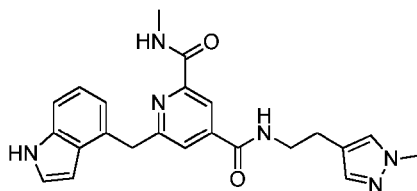
N.º de Ej.	Nombre	Estructura	Masa (mg)	Rendimiento (%)	[MH] ⁺	Tr (min)
44	(S)-N ² -Metil-N ⁴ -(2-metil-2H-tetrazol-5-il)-6-(1-feniletil)piridin-2,4-dicarboxamida		15	29	366,3	0,85 (pH elevado)
47	(S)-N ² -Metil-N ⁴ -(2-(1-metil-1H-1,2,4-triazol-5-il)etil)-6-(1-feniletil)piridin-2,4-dicarboxamida		49,9	85	393,4	0,89 (pH elevado)
50	(S)-N ⁴ -(1-(2-Hidroxietil)-1H-pirazol-3-il)-N ² -metil-6-(1-feniletil)piridin-2,4-dicarboxamida		48,4	70	394,4	0,91 (pH elevado)
78	(S)-N ² -Metil-6-(1-feniletil)piridin-2,4-dicarboxamida		58	58	284,3	0,88 (pH elevado)

Ejemplo 21: (R)-N²-Metil-6-(1-feniletíl)-N⁴-(1H-pirazol-4-il)piridin-2,4-dicarboxamida

- 5 A una mezcla de ácido (R)-2-(metilcarbamoyl)-6-(1-feniletíl)isonicotínico (53,7 mg, 0,19 mmol), HATU (86,7 mg, 0,23 mmol) y 1H-pirazol-4-amina, (28,9 mg, 0,24 mmol) en DMF (1 ml) se le añadió DIPEA (0,132 ml, 0,76 mmol). La solución de color gris oscuro resultante se agitó a ta durante 2,75 h. La mezcla de reacción se diluyó con DMSO (2 ml) y se purificó directamente por MDAP (inyección de 3 ml, pH elevado). Las fracciones requeridas (fracciones 1 y 2) se combinaron y se evaporaron al vacío para proporcionar el producto deseado en forma de un sólido de color amarillo claro - (R)-N²-metil-6-(1-feniletíl)-N⁴-(1H-pirazol-4-il)piridin-2,4-dicarboxamida (39,9 mg, 0,11 mmol, 61 % de rendimiento)

CLEM (2 min, pH elevado): Tr = 0,92 min, [MH]⁺ = 350,3.

15 **Ejemplo 36: 6-((1H-indol-4-il)metil)-N²-metil-N⁴-(2-(1-metil-1H-pirazol-4-il)etil)piridin-2,4-dicarboxamida**



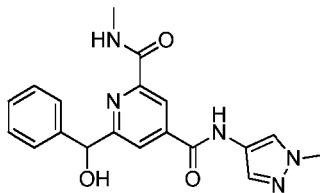
- 20 A una mezcla de ácido 2-((1H-indol-4-il)metil)-6-(metilcarbamoyl)isonicotínico (30,1 mg, 0,10 mmol) y HATU (58,5 mg, 0,15 mmol) se le añadió una solución de 2-(1-metil-1H-pirazol-4-il)etanamina (21,9 mg, 0,18 mmol) en DMF (0,8 ml) seguida de DIPEA (0,050 ml, 0,29 mmol) y la mezcla se agitó a ta durante 20 min antes de dejarla reposar durante 15 h. Después, la mezcla se concentró en una corriente de nitrógeno y se diluyó con acetonitrilo hasta un volumen total de 1 ml y se purificó directamente por MDAP (inyección de 1 x 1 ml; ácido fórmico) y la fracción requerida (fracción 1) se evaporó en una corriente de nitrógeno. El residuo se redisolvió en diclorometano (~ 6 ml) y metanol (~ 3 ml) y se transfirió a un vial alquitranado, el disolvente se evaporó en una corriente de nitrógeno y el residuo se secó al vacío para proporcionar el producto deseado en forma de un sólido de color pardo claro - 6-((1 H-indol-4-il)metil)-N²-metil-N⁴-(2-(1-metil-1 H-pirazol-4-il)etil)piridin-2,4-dicarboxamida (25,8 mg, 0,06 mmol, rendimiento del 64 %)

CLEM (2 min, ácido fórmico): Tr = 0,82 min, [MH]⁺ = 417,4.

- 30 Los siguientes ejemplos se prepararon de manera similar al **ejemplo 36** a partir de **intermedio 15**, ácido 2-((1H-indol-4-il)metil)-6-(metilcarbamoyl)isonicotínico y el monómero de amina apropiado disponible en el mercado, para proporcionar los ejemplos enumerados.

Ejemplos

N.º de Ej.	Nombre	Estructura	Masa (mg)	Rendimiento (%)	[MH] ⁺	Tr (min)
37	6-((1 <i>H</i> -Indol-4-il)metil)-N ⁴ -(2-(1 <i>H</i> -pirazol-3-il)etil)-N ² -metilpiridin-2,4-dicarboxamida		21,4	56	403,4	0,78 (ácido fórmico)
38	6-((1 <i>H</i> -Indol-4-il)metil)-N ² -metil-N ⁴ -(1-metil-1 <i>H</i> -pirazol-4-il)piridin-2,4-dicarboxamida		15,5	41	389,4	0,84 (ácido fórmico)
48	6-((1 <i>H</i> -Indol-4-il)metil)-N ² -metil-N ⁴ -(1 <i>H</i> -pirazol-4-il)piridin-2,4-dicarboxamida		34,9	76	375,4	0,81 (pH elevado)
79	6-((1 <i>H</i> -Indol-4-il)metil)-N ² -metilpiridin-2,4-dicarboxamida		15	39	309,2	0,75 (Ácido fórmico)

Ejemplo 45: (+/-)-6-(Hidroxi(fenil)metil)-N²-metil-N⁴-(1-metil-1H-pirazol-4-il)piridin-2,4-dicarboxamida

5 A una solución de ácido ($\pm$)-2-(hidroxi(fenil)metil)-6-(metilcarbamoyl)isonicotínico (48,1 mg, 0,17 mmol), HATU (94,4 mg, 0,25 mmol) y 1-metil-1H-pirazol-4-amina, (35,5 mg, 0,27 mmol) en DMF (1,0 ml) se le añadió DIPEA (0,117 ml, 0,67 mmol). La solución de color naranja oscuro resultante se agitó a ta durante 2 h, después de lo cual se diluyó con DMSO (2 ml) y se purificó directamente por MDAP (inyección de 3 ml, pH elevado). Las fracciones requeridas (fracciones 1 y 2) se evaporaron en una corriente de nitrógeno, se redisolieron en metanol (2 ml cada una) y

10 se evaporaron en una corriente de nitrógeno y el residuo se secó al vacío para proporcionar el producto deseado en forma de un sólido de color verde claro - ($\pm$)-6-(hidroxi(fenil)metil)-N²-metil-N⁴-(1-metil-1H-pirazol-4-il)piridin-2,4-dicarboxamida (52,4 mg, 0,14 mmol, rendimiento del 85 %).

15 CLEM (2 min, pH elevado): Tr = 0,77 min, [MH]⁺ = 366,3.

Los siguientes ejemplos se prepararon de una manera similar a la del **ejemplo 45** a partir de **intermedio 17**, ácido ($\pm$)-2-(hidroxi(fenil)metil)-6-(metilcarbamoyl)isonicotínico y el monómero de amina apropiado disponible en el mercado, para proporcionar los ejemplos enumerados.

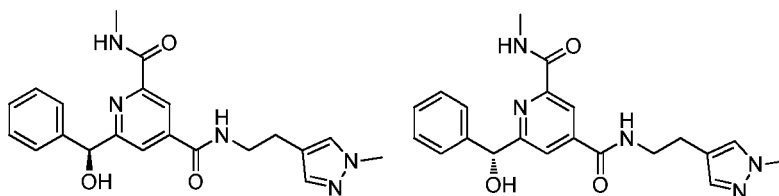
20

Ejemplos

N.º de Ej.	Nombre	Estructura	Masa (mg)	Rendimiento (%)	[MH] ⁺	Tr (min)
46	(+/-)-6-(Hidroxi(fenil)metil)-N ² -metil-N ⁴ -(2-(1-metil-1H-pirazol-4-il)etil)piridin-2,4-dicarboxamida		58,2	88	394,4	0,77 (pH elevado)

Ejemplo 49: (S*)-6-(Hidroxi(fenil)metil)-N²-metil-N⁴-(2-(1-metil-1H-pirazol-4-il)etil)piridin-2,4-dicarboxamida**Ejemplo 77: (R*)-6-(Hidroxi(fenil)metil)-N²-metil-N⁴-(2-(1-metil-1H-pirazol-4-il)etil)piridin-2,4-dicarboxamida**

25



30 Se purificó (+/-)-6-(hidroxi(fenil)metil)-N²-metil-N⁴-(2-(1-metil-1H-pirazol-4-il)etil)piridin-2,4-dicarboxamida (para una preparación véase el Ejemplo 46) (52 mg) por HPLC quiral. El racemato se disolvió en EtOH (2 ml). Inyección: Se inyectó 1 ml de la solución en la columna (EtOH al 30 %/heptano, caudal = 30 ml/min, longitud de onda de detección = 215 nm, 4. Ref 550, 100, Columna 30 mm x 25 cm Chiralpak IA (5 μ m), lote n.º IA11321-01). Número total de inyecciones = 7. Las fracciones de 24-29 min se agruparon y se etiquetaron como pico 1. Las fracciones de 29-37 min se agruparon y se etiquetaron como mezcla, Las fracciones de 37-50 min se agruparon y se etiquetaron como pico 2.

35 Las fracciones mixtas agrupadas se concentraron al vacío y se reprocesaron usando el método anterior. Las fracciones puras agrupadas se concentraron al vacío y después se transfirieron a matraces ponderados.

Las fracciones que correspondían al pico 1 se recogieron para proporcionar **ejemplo 77** (25 mg)

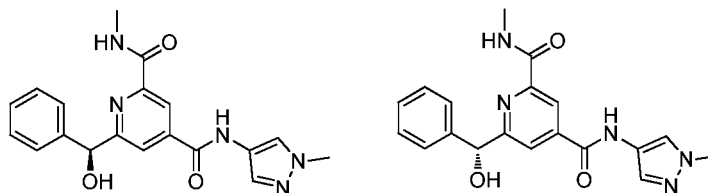
CLEM (2 min, pH elevado): Tr = 0,76 min, [MH]⁺ = 394,4.

40

Las fracciones que correspondían al pico 2 se recogieron para proporcionar **ejemplo 49** (21 mg)

CLEM (2 min, pH elevado): Tr = 0,76 min, [MH]⁺ = 394,4.

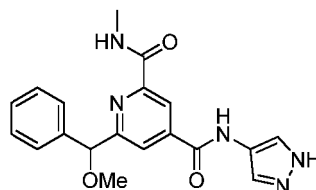
Ejemplo 52: (S*)-6-(Hidroxi(fenil)metil)-N²-metil-N⁴-(1-metil-1H-pirazol-4-il)piridin-2,4-dicarboxamida

Ejemplo 53: (*R*^{*})-6-(Hidroxifenil)metil)-N²-metil-N⁴-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)piridin-2,4-dicarboxamida

5 El **Ejemplo 45** (45 mg) se purificó por HPLC quiral. El racemato se disolvió en EtOH (3 ml) con calentamiento. Inyección: Se inyectó 1,5 ml de la solución en la columna (EtOH al 20 %/heptano, caudal = 20 ml/min, longitud de onda de detección = 215 nm, 4. Ref 550, 100, Columna 21,1 mm x 25 cm (R-R) Whelk O-1 (5 µm), lote n.º 49788). Número total de inyecciones = 3. Las fracciones de 23,5-26 min se agruparon y se etiquetaron como pico 1. Las fracciones de 26-28 min se agruparon y se etiquetaron como mezcla, Las fracciones de 28-32 min se agruparon y se etiquetaron como pico 2. Las fracciones mixtas agrupadas se concentraron al vacío y se reprocesaron usando el método anterior. Las fracciones puras agrupadas se concentraron al vacío y después se transfirieron a matraces ponderados.

Las fracciones que correspondían al pico 1 se recogieron para proporcionar **ejemplo 52** (20 mg)
 15 CLEM (2 min, ácido fórmico): Tr = 0,75 min, [MH]⁺ = 366,3.

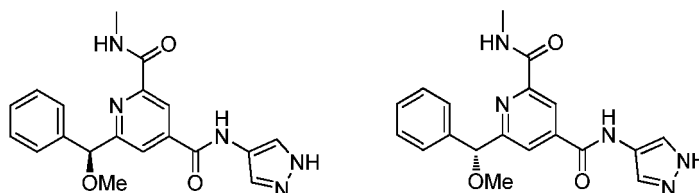
Las fracciones que correspondían al pico 2 se recogieron para proporcionar **ejemplo 53** (20 mg)
 CLEM (2 min, ácido fórmico): Tr = 0,73 min, [MH]⁺ = 366,3.

Ejemplo 54: (+/-)-6-(Metoxifenil)metil)-N²-metil-N⁴-(1*H*-pirazol-4-il)piridin-2,4-dicarboxamida

25 Se añadió ácido 2-(metoxifenil)metil)-6-(metilcarbamoil)isonicotínico (150 mg, 0,50 mmol) a un matraz seco. Se añadió DMF (2 ml), seguido de HATU (228 mg, 0,60 mmol) y 1*H*-pirazol-4-amina, clorhidrato (59,7 mg, 0,50 mmol). La reacción se agitó durante 2 min y después se añadió DIPEA (0,262 ml, 1,498 mmol). La reacción se agitó a ta durante 30 min. La mezcla de reacción se añadió directamente a 3 viales de CLEM, diluyendo con DMSO/MeOH y se purificó por 3 x MDAP (pH elevado). Las fracciones apropiadas se concentraron al vacío para proporcionar el producto deseado en forma de un sólido de color amarillo - (+/-)-6-(metoxifenil)metil)-N²-metil-N⁴-(1*H*-pirazol-4-il)piridin-2,4-dicarboxamida (100 mg, 0,27 mmol, rendimiento del 55 %)

CLEM (2 min, ácido fórmico): Tr = 0,82 min, [MH]⁺ = 366,3.

35 RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 12,69 (s a, 1 H) 10,92 (s, 1 H), 8,67 (c, J = 4,8 Hz, 1 H), 8,45 (d, J = 1,7 Hz, 1 H), 8,17 (d, J = 1,5 Hz, 1 H), 8,04 (s a, 1 H), 7,72 (s a, 1 H), 7,51 (d, J = 7,1 Hz, 2 H), 7,36 (t, J = 7,5 Hz, 2 H), 7,24 - 7,31 (m, 1 H), 5,52 (s, 1 H), 3,39 (s, 3 H), 2,88 (d, J = 4,9 Hz, 3 H)

Ejemplo 55: (*S*^{*})-6-(Metoxifenil)metil)-N²-metil-N⁴-(1*H*-pirazol-4-il)piridin-2,4-dicarboxamida**Ejemplo 56: (*R*^{*})-6-(Metoxifenil)metil)-N²-metil-N⁴-(1*H*-pirazol-4-il)piridin-2,4-dicarboxamida**

45 Se purificó (+/-)-6-(metoxifenil)metil)-N²-metil-N⁴-(1*H*-pirazol-4-il)piridin-2,4-dicarboxamida (para una preparación véase el Ejemplo 54) (90 mg) por HPLC quiral. El racemato se disolvió en EtOH (2 ml). Inyección: Se inyectaron 1,5 ml de la solución en la columna (EtOH al 20 % (+ isopropilamina al 0,2 %)/heptano (+ isopropilamina al 0,2 %), caudal = 30 ml/min, longitud de onda de detección = 215 nm, 4. Ref 550, 100, Columna 30 mm x 25 cm Chiralcel OD-H (5 µm), lote n.º ODH11158-01). Número total de inyecciones = 1. Las fracciones de 9-11 min se agruparon y se etiquetaron

como pico 1. Las fracciones de 12,5-17 min se agruparon y se etiquetaron como pico 2. Las fracciones puras agrupadas se concentraron al vacío y después se transfirieron a matraces ponderados.

Las fracciones que correspondían al pico 1 se recogieron para proporcionar **ejemplo 55** (35,4 mg)

5 CLEM (2 min, ácido fórmico): Tr = 0,83 min, [MH]⁺ = 366,2.

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 12,69 (s a, 1 H), 10,93 (s, 1 H) 8,67 (c, J = 4,3 Hz, 1 H) 8,45 (d, J = 1,7 Hz, 1 H), 8,17 (d, J = 1,7 Hz, 1 H), 8,04 (s a, 1 H), 7,72 (s a, 1 H), 7,51 (d, J = 7,1 Hz, 2 H), 7,33 - 7,39 (m, 2 H), 7,24 - 7,30 (m, 1 H), 5,52 (s, 1 H), 3,39 (s, 3 H), 2,88 (d, J = 4,9 Hz, 3 H)

10 Las fracciones que correspondían al pico 2 se recogieron para proporcionar **ejemplo 56** (39,2 mg)

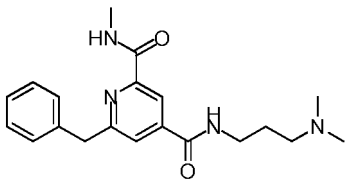
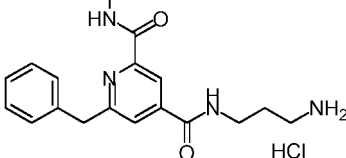
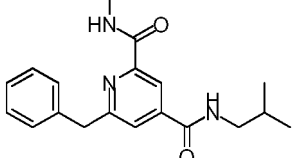
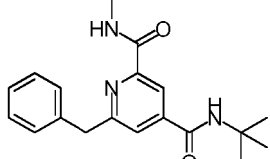
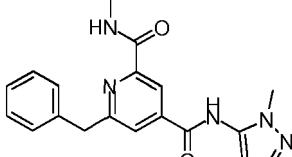
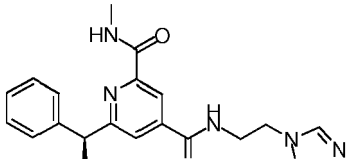
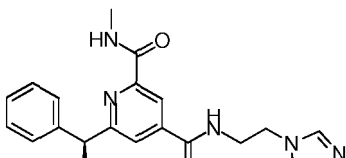
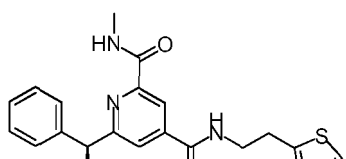
CLEM (2 min, ácido fórmico): Tr = 0,83 min, [MH]⁺ = 366,3.

Ejemplos 57- 76 y 81:

15

Los Ejemplos 57 - 76 y 81 se prepararon de manera análoga a otros ejemplos descritos anteriormente.

N.º de Ej.	Nombre	Estructura	[MH] ⁺	Tr (min)
57	6-Bencil-N ⁴ -etil-N ² -metilpiridin-2,4-dicarboxamida		298,3	0,91 (ácido fórmico)
58	6-Bencil-N ⁴ -(2-metoxietil)-N ² -metilpiridin-2,4-dicarboxamida		328,2	0,91 (pH elevado)
59	6-(3-Metoxibencil)-N ⁴ -(2-metoxietil)-N ² -metilpiridin-2,4-dicarboxamida		358,3	0,91 (pH elevado)
60	6-Bencil-N ⁴ -isopropil-N ² -metilpiridin-2,4-dicarboxamida		312,2	0,97 (pH elevado)
61	(+/-)-6-Bencil-N ⁴ -(2-hidroxipropil)-N ² -metilpiridin-2,4-dicarboxamida		328,1	0,80 (ácido fórmico)
62	6-Bencil-N ⁴ -(2-hidroxietil)-N ² -metilpiridin-2,4-dicarboxamida		314,1	0,76 (ácido fórmico)

N.º de Ej.	Nombre	Estructura	[MH] ⁺	Tr (min)
63	6-Bencil-N ⁴ -(3-(dimetilamino)propil)-N ² -metilpiridin-2,4-dicarboxamida		355,3	0,59 (ácido fórmico)
64	Clorhidrato de N ⁴ -(3-aminopropil)-6-bencil-N ² -metilpiridin-2,4-dicarboxamida		327,3	0,55 (ácido fórmico)
65	6-Bencil-N ⁴ -isobutil-N ² -metilpiridin-2,4-dicarboxamida		326,3	1,07 (pH elevado)
66	6-Bencil-N ⁴ -(terc-butil)-N ² -metilpiridin-2,4-dicarboxamida		326,3	1,10 (pH elevado)
67	6-Bencil-N ² -metil-N ⁴ -(1-metil-1 H-pirazol-5-il)piridin-2,4-dicarboxamida		350,3	0,90 (pH elevado)
68	(S)-N ⁴ -(2-(1 H-1,2,4-Triazol-1-il)etil)-N ² -metil-6-(1-feniletil)piridin-2,4-dicarboxamida		379,4	0,87 (pH elevado)
69	(S)-N ⁴ -(2-(1H-Imidazol-1-il)etil)-N ² -metil-6-(1-feniletil)piridin-2,4-dicarboxamida		378,4	0,90 (pH elevado)
70	(S)-N ² -Metil-6-(1-feniletil)-N ⁴ -(2-(tiazol-2-il)etil)piridin-2,4-dicarboxamida		395,4	1,01 (pH elevado)

N.º de Ej.	Nombre	Estructura	[MH] ⁺	Tr (min)
71	(S)-N ² -Metil-N ⁴ -(2-(2-metil-1H-imidazol-1-il)etil)-6-(1-feniletil)piridin-2,4-dicarboxamida		392,4	0,91 (pH elevado)
72	(S)-N ² -Metil-N ⁴ -(4-metil-1H-pirazol-3-il)-6-(1-feniletil)piridin-2,4-dicarboxamida		364,3	1,03 (ácido fórmico)
73	(S)-N ² -Metil-N ⁴ -(3-metil-1H-pirazol-4-il)-6-(1-feniletil)piridin-2,4-dicarboxamida		364,4	0,93 (pH elevado)
74	(S)-N ² -Metil-N ⁴ -(3-metil-1,2,4-oxadiazol-5-il)-6-(1-feniletil)piridin-2,4-dicarboxamida		366,3	0,74 (pH elevado)
75	(S)-N ² -Metil-N ⁴ -(5-metil-1,3,4-oxadiazol-2-il)-6-(1-feniletil)piridin-2,4-dicarboxamida		366,3	0,74 (pH elevado)
76	(S)-N ² -Metil-N ⁴ -(4-metil-4H-1,2,4-triazol-3-il)-6-(1-feniletil)piridin-2,4-dicarboxamida		365,3	0,77 (pH elevado)
81	6-Bencil-N ² -metilpiridin-2,4-dicarboxamida		270,1	0,78 (Ácido fórmico)

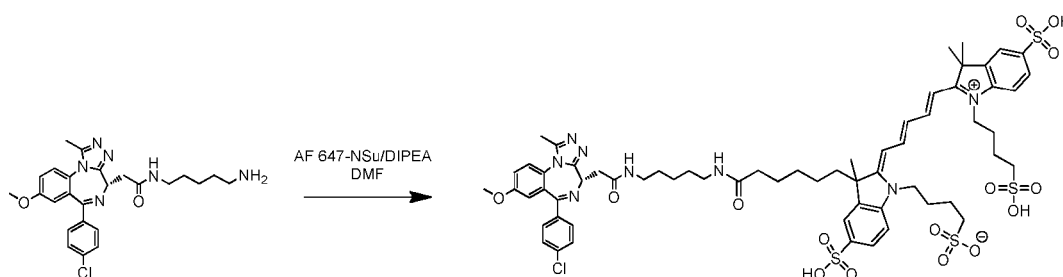
DATOS BIOLÓGICOS

Los compuestos de fórmula (I) pueden someterse a ensayo en uno o más de los siguientes ensayos:

Ensayo de transferencia de energía por resonancia de fluorescencia resuelta en el tiempo (TR-TERF)

La unión al bromodominio se evaluó usando un ensayo de competencia por transferencia de energía por resonancia de fluorescencia resuelta en el tiempo (TR-FRET). Para permitir este enfoque, se marcó una molécula pequeña conocida, de alta afinidad y que interactúa con BET, con Alexa Fluor® 647, que es un colorante fluorescente del rojo lejano (Compuesto de Referencia X). El Compuesto de Referencia X actúa como indicador de la unión del bromodominio y es el componente fluoróforo aceptor del par de TR-FRET. Se utilizó quelato de europio, conjugado con un anticuerpo anti-6*His, como fluoróforo donante en el par de TR-FRET. El anticuerpo anti-6*His se une selectivamente a un epítipo de purificación de seis histidinas añadido al extremo amino de cada una de las construcciones de la proteína de bromodominio en tándem BET utilizadas en este estudio. Se genera una señal de TR-FRET cuando los fluoróforos donante y aceptor están en estrecha proximidad, entre 20-80 Å, que se habilita en este ensayo mediante la unión del Compuesto de Referencia X a la proteína de bromodominio.

Compuesto de Referencia X: 4-((Z)-3-(6-((5-(2-((4S)-6-(4-clorofenil)-8-metoxi-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-4-il)acetamido)pentil)amino)-6-oxohexil)-2-((2E,4E)-5-(3,3-dimetil-5-sulfo-1-(4-sulfobutil)-3H-indol-1-ium-2-il)penta-2,4-dien-1-ilideno)-3-metil-5-sulfoindolin-1-il)butano-1-sulfonato)



A una solución de *N*-(5-aminopentil)-2-((4S)-6-(4-clorofenil)-8-metoxi-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-4-il)acetamida (para una preparación véase el Compuesto de Referencia J, documento WO2011/054848A1, 1,7 mg, 3,53 µmol) en DMF (40 µl) se le añadió una solución de AlexaFluor647-ONSu (2,16 mg, 1,966 µmol) también en DMF (100 µl). La mezcla se basificó con DIPEA (1 µl, 5,73 µmol) y se agitó durante la noche en un mezclador de vórtice.

La mezcla de reacción se evaporó a sequedad. El sólido se disolvió en MeCN/agua/AcOH (5/4/1, <1 ml) se filtró y se aplicó a una columna preparativa Phenomenex Jupiter C18 y se eluyó con el siguiente gradiente (A = ácido trifluoroacético al 0,1 % en agua, B = TFA al 0,1 %/MeCN al 90 %/agua al 10 %): Caudal = 10 ml/min., UA = 20/10 (214 nm): 5-35 %, t = 0 min: B = 5 %; t = 10 min: B = 5 %; t = 100min: B = 35 %; t = 115min: B = 100 % (grad. de sep.: 0,33 %/min)

El componente principal se eluyó en el intervalo del 26-28 % de B, pero parecía estar compuesto por dos picos. La fracción intermedia (F1.26), que debería contener "ambos" componentes, se analizó mediante HPLC analítica (Spherisorb ODS2, del 1 al 35 % durante 60 min): componente único que eluye al 28 % de B.

Las fracciones F1.25/26y27 se combinaron y se evaporaron a sequedad. Se transfirieron con DMF, se evaporaron a sequedad, se trituraron con éter seco y el sólido de color azul se secó durante la noche a <20 Pa (0,2 mbar): 1,54 mg.

HPLC analítica (Sphersisorb ODS2, del 1 al 35 % de B en 60 min): MSM10520-1: [M+H]⁺ (obs): 661,8/- correspondiente a M-29. Esto equivale a [(M+2H)/2]⁺ para una masa calculada de 1320,984 que es M-29. Se trata de un hecho habitual con el colorante Alexa Fluor 647 y representa una pérdida teórica de dos grupos metileno en las condiciones del espectrómetro de masas.

Principio del ensayo: Para generar una señal de TR-FRET, el fluoróforo donante se excita mediante un láser a λ337 nm, que posteriormente conduce a la emisión a λ618 nm. Si el fluoróforo aceptor está en estrecha proximidad puede producirse una transferencia de energía, que conduce a la emisión de Alexa Fluor® 647 a λ665 nm. En presencia de compuesto competidor, el Compuesto de Referencia X puede desplazarse de la unión al bromodominio. Si se produce un desplazamiento, el fluoróforo aceptor ya no está próximo al fluoróforo donante, lo que impide la transferencia de energía fluorescente y, posteriormente, una pérdida de la emisión de Alexa Fluor® 647 a λ665 nm.

La competencia de los compuestos de fórmula (I) con el Compuesto de Referencia X por la unión a la familia BET (BRD2, BRD3, BRD4 y BRDT) se evaluó usando truncamientos de proteínas que abarcan tanto el bromodominio 1 (BD1) como el bromodominio 2 (BD2). Para controlar la unión diferencial a BD1 o BD2, se realizaron mutaciones de un único resto de tirosinas clave a alanina en los bolsillos de unión de acetil-lisina. Para validar este enfoque, se produjo una proteína de dominio en tándem mutante de doble resto para cada uno de los miembros de la familia BET. Utilizando un enfoque de polarización de fluorescencia, se determinaron las afinidades de unión de cada uno de los mutantes simples y dobles para el Compuesto de Referencia X. Las afinidades de las proteínas en tándem mutantes

dobles por el Compuesto de Referencia X se redujeron en gran medida en comparación con las proteínas BET en tándem de tipo silvestre no mutadas (reducción de >1000 veces en Kd). Las afinidades de las proteínas en tándem de bromodominio mutadas para el Compuesto de Referencia X fueron equipotentes con la correspondiente proteína BET no mutada. Estos datos demostraron que las mutaciones simples de tirosina a alanina reducen la Kd de la interacción entre el bromodominio mutado y el Compuesto de Referencia X en > 1000 veces. En el ensayo de competencia por TR-FRET, el Compuesto de Referencia X se usa a una concentración equivalente a la Kd del bromodominio no mutado, lo que garantiza que no se detecte ninguna unión en el bromodominio mutado.

Producción de proteínas: Se expresaron bromodominios humanos recombinantes [(BRD2 (1-473) (Y113A) y (Y386A), BRD3 (1-435) (Y73A) y (Y348A) BRD4 (1-477) (Y97A) y (Y390A) y BRDT (1-397) (Y66A) y (Y309A)] en células *E. coli* (en el vector pET15b para BRD2/3/4 y en el vector pET28a para BRDT) con un marcador 6-His en el extremo N. El sedimento de Bromodominio Marcado con His se resuspendió en HEPES 50 mM (pH7,5), NaCl 300 mM, imidazol 10 mM y cóctel de inhibidores de proteasas 1 µl/ml y se extrajo de las células de *E. coli* usando ultrasonidos y se purificó usando una columna de níquel sefarosa de alto rendimiento, las proteínas se lavaron y después se eluyeron con un gradiente lineal de imidazol 0-500 mM con tampón HEPES 50 mM (pH7,5), NaCl 150 mM, imidazol 500 mM, en más de 20 volúmenes de columnas. La purificación final se completó mediante una columna de exclusión por tamaño de grado prep Superdex 200. La proteína purificada se almacenó a -80 °C en HEPES 20 mM pH 7,5 y NaCl 100 mM. La identidad de la proteína se confirmó por la huella de masa peptídica y el peso molecular previsto se confirmó por espectrometría de masas.

Protocolo para los bromodominios BRD2, 3, 4 y T, ensayos de competencia por TR-FRET de mutantes BD1 + BD2: Todos los componentes del ensayo se disolvieron en un tampón de ensayo compuesto por HEPES 50 mM pH7,4, NaCl 50 mM, glicerina al 5 %, DTT 1 mM y CHAPS 1 mM. Se diluyó Compuesto de Referencia X, en tampón de ensayo que contenía un mutante simple 20 nM, proteína de bromodominio en tándem, a una concentración equivalente a 2*Kd para este bromodominio. La solución que contenía bromodominio y Compuesto de Referencia X se añadió a diluciones de respuesta a la dosis del compuesto de ensayo o vehículo de DMSO (en este ensayo se usó un máximo de DMSO al 0,5 %) en placas de microtitulación Greiner de 384 pocillos de color negro y volumen bajo, y posteriormente se incubó durante 30 minutos a temperatura ambiente. Se añadió un volumen igual de 3 nM de quelato de Europio anti-6*His a todos los pocillos, seguido de 30 minutos adicionales de incubación a temperatura ambiente. La TR-FRET se detectó usando un lector de placas Perkin Elmer Multimode, excitando el fluoróforo donante a λ337 nm y, posteriormente, después de un retraso de 50 µs, midiendo la emisión de los fluoróforos donante y aceptor a λ615 nm y λ665 nm, respectivamente. Para controlar estos ensayos, en cada placa de microtitulación se incluyeron 16 réplicas de ensayos de TR-FRET no inhibidos (vehículo DMSO) e inhibidos (concentraciones 10*Cl₅₀ de Ejemplo 11 del documento WO 2011/054846A1).

Después se aplicó un ajuste de curva de cuatro parámetros de la siguiente forma:

$$y = a + ((b - a) / (1 + (10^{x/10^c})^d))$$

Donde "a" es el mínimo, "b" es la pendiente de Hill, "c" es la pCl₅₀ y "d" es el máximo.

Todos los compuestos (Ejemplos) se sometieron a ensayo cada uno en los ensayos de TR-FRET de BD1 de BRD4 y de BD2 de BRD4 esencialmente como se ha descrito anteriormente. Los expertos en la materia reconocerán que los ensayos de unión *in vitro* y los ensayos basados en células para determinar la actividad funcional están sujetos a la variabilidad experimental. En consecuencia, ha de entenderse que los valores de pCl₅₀ que se proporcionan a continuación son solo de ejemplo. Los valores de pCl₅₀ se expresan en unidades log₁₀.

Se encontró que todos los Ejemplos, con la excepción del Ejemplo 72, tenían una pCl₅₀ ≥ 5,0 en al menos un ensayo descrito anteriormente.

Se encontró que los Ejemplos 59, 61, 66 y 74-76 tenían una pCl₅₀ ≥ 5,0 y < 6,0 en el ensayo de BD2 de BRD4.

Se encontró que todos los demás compuestos sometidos a ensayo tenían una pCl₅₀ ≥ 6,0 y < 8,1 en el ensayo de BD2 de BRD4. En particular, se encontró que el Ejemplo 11 tenía una pCl₅₀ de 7,8 (n = 2) en el ensayo de BD2 de BRD4; se encontró que el Ejemplo 12 tenía una pCl₅₀ de 7,7 (n = 8) en el ensayo de BD2 de BRD4; se encontró que el Ejemplo 16 tenía una pCl₅₀ de 8,0 (n = 5) en el ensayo de BD2 de BRD4; y se encontró que el Ejemplo 55 tenía una pCl₅₀ de 7,7 (n = 3) en el ensayo de BD2 de BRD4.

Cálculo de la selectividad para BD2 de BRD4 sobre BD1 de BRD4

La selectividad para BD2 de BRD4 sobre BD1 de BRD4 se calculó de la siguiente manera:

$$\text{Selectividad} = \text{pCl}_{50} \text{ de BD2 de BRD4} - \text{pCl}_{50} \text{ de BD1 de BRD4}$$

Se descubrió que todos los Ejemplos, con la excepción de los Ejemplos 62 y 72, tenían una selectividad para BD2 de BRD4 sobre BD1 de BRD4 de ≥ 1 unidad logarítmica en al menos uno de los ensayos de TR-FRET descritos anteriormente y, por lo tanto, son al menos 10 veces selectivos para BD2 de BRD4 sobre BD1 de BRD4.

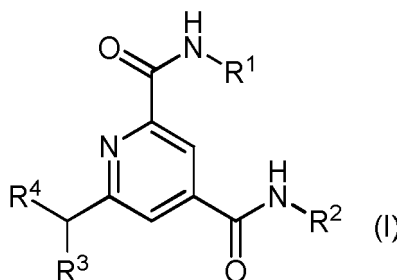
Se descubrió que los Ejemplos 1 a 56 y 78 - 80 tenían una selectividad para BD2 de BRD4 sobre BD1 de BRD4 de ≥ 2 unidad logarítmica en al menos uno de los ensayos de TR-FRET descritos anteriormente y, por lo tanto, son al menos 100 veces selectivos para BD2 de BRD4 sobre BD1 de BRD4.

5 Se descubrió que los Ejemplos 11, 12 y 55 tenían una selectividad para BD2 de BRD4 sobre BD1 de BRD4 de 2,7 unidades logarítmicas en al menos uno de los ensayos de TR-FRET descritos anteriormente.

10 Se descubrió que el Ejemplo 16 tenía una selectividad para BD2 de BRD4 sobre BD1 de BRD4 de 3,0 unidades logarítmicas en al menos uno de los ensayos de TR-FRET descritos anteriormente y, por lo tanto, selectivo 1000 veces para BD2 de BRD4 sobre BD1 de BRD4.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I)



o una sal de los mismos
en donde:

R¹ es -alquilo o ciclopropilo C₁₋₃;

R² es H, -CH₃, alquilo C₂₋₆ opcionalmente sustituido con uno, dos, tres, cuatro o cinco fluoro, -alquil C₂₋₆OR⁷, -alquil C₂₋₆NR⁷R⁸, -(CH₂)_mSO₂alquilo C₁₋₃, -(CH₂)_mC(O)NR⁷R⁸, -(CH₂)_mCN, -(CH₂)_mCO₂R⁷, -(CH₂)_mNHCO₂C(CH₃)₃ o

R² es -(CH₂)_nheteroarilo C₅₋₆ en donde el heteroarilo C₅₋₆ está opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente entre halo, -alquilo C₁₋₄, -cicloalquilo C₃₋₄ y -alquil C₀₋₄OR⁵;

R³ es H, -alquilo C₁₋₄, ciclopropilo, fluoro, cloro, -CH₂F, -alquil C₀₋₃OR⁵ o -alquil C₀₋₃CN;

R⁴ es fenilo o un grupo heteroarilo en donde cada uno está opcionalmente sustituido con uno, dos o tres grupos R⁶ que pueden ser iguales o diferentes;

R⁵ es H o -alquilo C₁₋₃;

cada R⁶ es independientemente halo, -alquilo C₁₋₄, -alquil C₀₋₃OR⁷, -alquil C₀₋₃NR⁹R¹⁰, -alquil C₀₋₃-CONR⁹R¹⁰, -CN, oxo, -SO₂-alquilo C₁₋₃ o -SO₂NR⁹R¹⁰;

R⁷ y R⁸ se seleccionan cada uno independientemente entre -H, -alquilo C₁₋₃ y -alquil C₂₋₄O-alquilo C₀₋₃;

R⁹ y R¹⁰ se seleccionan cada uno independientemente entre -H y -alquilo C₁₋₃; o R⁹ y R¹⁰ pueden unirse junto con el nitrógeno al que están unidos, para formar un heterociclilo de 4 a 7 miembros opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente entre -alquilo C₁₋₃ opcionalmente sustituido con hasta 3 átomos de flúor, -alquil C₂₋₄OH, -OH y F;

m es un número entero seleccionado entre 2, 3 o 4; y

n es un número entero seleccionado entre 0, 1, 2, 3 o 4.

2. Un compuesto o sal del mismo de acuerdo con la reivindicación 1, en donde R¹ es metilo.

3. Un compuesto o sal del mismo de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde R² es metilo, etilo, propilo, *iso*-propilo, butilo, -CH₂CH₂CH(CH₃)₂, -CH₂CH(CH₃)₂, -CH₂CH₂OR⁷, -CH₂CH₂CH₂OR⁷, -CH₂CH(CH₃)OR⁷, -CH₂CH₂CH(CH₃)OR⁷, -CH₂CH₂CH(OR⁷)₂, -CH₂CH₂CH(CH₃)NR⁷R⁸, -CH₂CH₂CH₂NR⁷R⁸, -(CH₂)_mSO₂CH₃, -(CH₂)_mC(O)NHCH₃, -(CH₂)_mCN, -(CH₂)_mCO₂R⁷, -(CH₂)_mCF₃ y -(CH₂)_mNHCO₂C(CH₃)₃.

4. Un compuesto o sal del mismo de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en donde R² es -(CH₂)_nheteroarilo C₅₋₆ en donde el heteroarilo C₅₋₆ se selecciona entre furanilo, tienilo, pirrolilo, triazolilo, tiazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, oxadiazolilo, imidazolilo, pirazolilo, triazolilo, tetrazolilo, isoxazolilo, piridinilo, piridazinilo, pirazinilo y pirimidinilo, estando dichos grupos opcionalmente sustituidos con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente entre halo, alquilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₄ y -alquil C₀₋₃OR⁵.

5. Un compuesto o una sal del mismo de acuerdo con la reivindicación 4, en donde el heteroarilo C₅₋₆ es pirazolilo opcionalmente sustituido con alquilo C₁₋₄ o -alquil C₀₋₃OR⁵.

6. Un compuesto o una sal del mismo de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, en donde R³ es -H, metilo, fluoro, -OCH₃ o -OH.

7. Un compuesto o una sal del mismo de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, en donde R⁴ es fenilo opcionalmente sustituido con uno, dos o tres grupos R⁶ que pueden ser iguales o diferentes.

8. Un compuesto o una sal del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde R⁴ es un grupo heteroarilo que es indolilo opcionalmente sustituido con uno, dos o tres grupos R⁶ que pueden ser iguales o diferentes.

9. Un compuesto o una sal del mismo de acuerdo con la reivindicación 8, en donde R⁴ es un grupo heteroarilo que es 1H-indol-4-ilo.

10. Un compuesto o una sal del mismo de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, en donde *m* es 2.

11. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 que se selecciona entre:

- 5 6-Bencil-N²-metil-N⁴-propilpiridin-2,4-dicarboxamida;
6-Bencil-N²,N⁴-dimetilpiridin-2,4-dicarboxamida;
(+/-)-6-Bencil-N⁴-(3-hidroxibutil)-N²-metilpiridin-2,4-dicarboxamida;
N⁴-(2-(1*H*-Imidazol-5-il)etil)-6-bencil-N²-metilpiridin-2,4-dicarboxamida;
6-Bencil-N⁴-(3-hidroxipropil)-N²-metilpiridin-2,4-dicarboxamida;
- 10 (+/-)-N⁴-(2-Hidroxietil)-N²-metil-6-(1-feniletíl)piridin-2,4-dicarboxamida;
6-Bencil-N⁴-(3-metoxipropil)-N²-metilpiridin-2,4-dicarboxamida;
N⁴-(2-(1*H*-Pirazol-3-il)etil)-6-bencil-N²-metilpiridin-2,4-dicarboxamida;
6-Bencil-N⁴-isopentil-N²-metilpiridin-2,4-dicarboxamida;
- 15 6-Bencil-N²-metil-N⁴-(oxazol-2-il)piridin-2,4-dicarboxamida;
6-Bencil-N²-metil-N⁴-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)piridin-2,4-dicarboxamida;
6-Bencil-N²-metil-N⁴-(1*H*-pirazol-4-il)piridin-2,4-dicarboxamida;
6-Bencil-N²-metil-N⁴-(1*H*-pirazol-5-il)piridin-2,4-dicarboxamida;
(S)-N²-Metil-N⁴-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-6-(1-feniletíl)piridin-2,4-dicarboxamida;
(S)-N²-Metil-6-(1-feniletíl)-N⁴-(1*H*-pirazol-3-il)piridin-2,4-dicarboxamida;
- 20 (S)-N²-Metil-6-(1-feniletíl)-N⁴-(1*H*-pirazol-4-il)piridin-2,4-dicarboxamida;
(S)-N²-Metil-6-(1-feniletíl)-N⁴-(2-(piridin-2-il)etil)piridin-2,4-dicarboxamida;
(S)-N²-Metil-6-(1-feniletíl)-N⁴-(2-(piridin-3-il)etil)piridin-2,4-dicarboxamida;
(S)-N⁴-(2-(1*H*-Pirazol-4-il)etil)-N²-metil-6-(1-feniletíl)piridin-2,4-dicarboxamida;
N⁴-(1*H*-Pirazol-3-il)etil)-6-bencil-N²-metilpiridin-2,4-dicarboxamida;
- 25 (R)-N²-Metil-6-(1-feniletíl)-N⁴-(1*H*-pirazol-4-il)piridin-2,4-dicarboxamida;
(S)-N²-Metil-N⁴-(2-(1-metil-1*H*-pirazol-3-il)etil)-6-(1-feniletíl)piridin-2,4-dicarboxamida;
(S)-N⁴-(2-(1*H*-Pirazol-5-il)etil)-N²-metil-6-(1-feniletíl)piridin-2,4-dicarboxamida;
6-Bencil-N²-metil-N⁴-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)etil)piridin-2,4-dicarboxamida;
(S)-N²-Metil-N⁴-(1-metil-1*H*-pirazol-3-il)-6-(1-feniletíl)piridin-2,4-dicarboxamida;
- 30 (S)-N⁴-(2-(1*H*,1,2,3-Triazol-1-il)etil)-N²-metil-6-(1-feniletíl)piridin-2,4-dicarboxamida;
(S)-N⁴-(2-(1*H*-Pirazol-1-il)etil)-N²-metil-6-(1-feniletíl)piridin-2,4-dicarboxamida;
6-Bencil-N²-metil-N⁴-(1-metil-1*H*-pirazol-3-il)piridin-2,4-dicarboxamida;
(S)-N⁴-(2-(Isoxazol-4-il)etil)-N²-metil-6-(1-feniletíl)piridin-2,4-dicarboxamida;
6-Bencil-N⁴-(3,3-dietoxipropil)-N²-metilpiridin-2,4-dicarboxamida;
- 35 (S)-N²-Metil-6-(1-feniletíl)-N⁴-(piridazin-4-il)piridin-2,4-dicarboxamida;
(S)-N²-Metil-N⁴-(2-(4-metil-1*H*,1,2,4-triazol-3-il)etil)-6-(1-feniletíl)piridin-2,4-dicarboxamida;
(S)-N²-Metil-N⁴-(2-(4-metiltiazol-5-il)etil)-6-(1-feniletíl)piridin-2,4-dicarboxamida;
6-Bencil-N⁴-(4,4-dietoxibutil)-N²-metilpiridin-2,4-dicarboxamida;
(S)-N²-Metil-6-(1-feniletíl)-N⁴-(2-(tiazol-4-il)etil)piridin-2,4-dicarboxamida;
- 40 6-((1*H*-Indol-4-il)etil)-N²-metil-N⁴-(2-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)etil)piridin-2,4-dicarboxamida;
6-((1*H*-Indol-4-il)etil)-N⁴-(2-(1*H*-pirazol-3-il)etil)-N²-metilpiridin-2,4-dicarboxamida;
6-((1*H*-Indol-4-il)etil)-N²-metil-N⁴-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)piridin-2,4-dicarboxamida;
(S)-N²-Metil-N⁴-(2-(4-metil-4*H*,1,2,4-triazol-3-il)etil)-6-(1-feniletíl)piridin-2,4-dicarboxamida;
(S)-N²-Metil-N⁴-(2-(5-metil-1,3,4-oxadiazol-2-il)etil)-6-(1-feniletíl)piridin-2,4-dicarboxamida;
- 45 (S)-N²-Metil-N⁴-(1-metil-1*H*-pirazol-3-il)etil)-6-(1-feniletíl)piridin-2,4-dicarboxamida;
(S)-N⁴-(1-(2-Hidroxietil)-1*H*-pirazol-4-il)-N²-metil-6-(1-feniletíl)piridin-2,4-dicarboxamida;
(S)-N²-Metil-6-(1-feniletíl)-N⁴-(pirimidin-5-il)piridin-2,4-dicarboxamida;
(S)-N²-Metil-N⁴-(2-metil-2*H*-tetrazol-5-il)-6-(1-feniletíl)piridin-2,4-dicarboxamida;
(+/-)-6-(Hidroxi(fenil)etil)-N²-metil-N⁴-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)piridin-2,4-dicarboxamida;
- 50 (+/-)-6-(Hidroxi(fenil)etil)-N²-metil-N⁴-(2-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)etil)piridin-2,4-dicarboxamida;
(S)-N²-Metil-N⁴-(2-(1-metil-1*H*,1,2,4-triazol-5-il)etil)-6-(1-feniletíl)piridin-2,4-dicarboxamida;
6-((1*H*-Indol-4-il)etil)-N²-metil-N⁴-(1*H*-pirazol-4-il)piridin-2,4-dicarboxamida;
(S*)-6-(Hidroxi(fenil)etil)-N²-metil-N⁴-(2-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)etil)piridin-2,4-dicarboxamida;
(S)-N⁴-(1-(2-Hidroxietil)-1*H*-pirazol-3-il)-N²-metil-6-(1-feniletíl)piridin-2,4-dicarboxamida;
- 55 6-Bencil-N⁴-(1-(2-hidroxietil)-1*H*-pirazol-3-il)-N²-metilpiridin-2,4-dicarboxamida;
(S*)-6-(Hidroxi(fenil)etil)-N²-metil-N⁴-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)piridin-2,4-dicarboxamida;
(R*)-6-(Hidroxi(fenil)etil)-N²-metil-N⁴-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)piridin-2,4-dicarboxamida;
(+/-)-6-(Metoxi(fenil)etil)-N²-metil-N⁴-(1*H*-pirazol-4-il)piridin-2,4-dicarboxamida;
(S*)-6-(Metoxi(fenil)etil)-N²-metil-N⁴-(1*H*-pirazol-4-il)piridin-2,4-dicarboxamida;
- 60 (R*)-6-(Metoxi(fenil)etil)-N²-metil-N⁴-(1*H*-pirazol-4-il)piridin-2,4-dicarboxamida;
6-Bencil-N⁴-etil-N²-metilpiridin-2,4-dicarboxamida;
6-Bencil-N⁴-(2-metoxietil)-N²-metilpiridin-2,4-dicarboxamida;
6-(3-Metoxibencil)-N⁴-(2-metoxietil)-N²-metilpiridin-2,4-dicarboxamida;
6-Bencil-N⁴-isopropil-N²-metilpiridin-2,4-dicarboxamida;
- 65 (+/-)-6-Bencil-N⁴-(2-hidroxipropil)-N²-metilpiridin-2,4-dicarboxamida;
6-Bencil-N⁴-(2-hidroxietil)-N²-metilpiridin-2,4-dicarboxamida;

- 6-Bencil-N⁴-(3-(dimetilamino)propil)-N²-metilpiridin-2,4-dicarboxamida;
 Clorhidrato de N⁴-(3-aminopropil)-6-bencil-N²-metilpiridin-2,4-dicarboxamida;
 6-Bencil-N⁴-isobutil-N²-metilpiridin-2,4-dicarboxamida;
 6-Bencil-N⁴-(*tert*-butil)-N²-metilpiridin-2,4-dicarboxamida;
 5 6-Bencil-N²-metil-N⁴-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)piridin-2,4-dicarboxamida;
 (S)-N⁴-(2-(1*H*-1,2,4-Triazol-1-il)etil)-N²-metil-6-(1-feniletil)piridin-2,4-dicarboxamida;
 (S)-N⁴-(2-(1*H*-Imidazol-1-il)etil)-N²-metil-6-(1-feniletil)piridin-2,4-dicarboxamida;
 (S)-N²-Metil-6-(1-feniletil)-N⁴-(2-(tiazol-2-il)etil)piridin-2,4-dicarboxamida;
 (S)-N²-Metil-N⁴-(2-(2-metil-1*H*-imidazol-1-il)etil)-6-(1-feniletil)piridin-2,4-dicarboxamida;
 10 (S)-N²-Metil-N⁴-(4-metil-1*H*-pirazol-3-il)-6-(1-feniletil)piridin-2,4-dicarboxamida;
 (S)-N²-Metil-N⁴-(3-metil-1*H*-pirazol-4-il)-6-(1-feniletil)piridin-2,4-dicarboxamida;
 (S)-N²-Metil-N⁴-(3-metil-1,2,4-oxadiazol-5-il)-6-(1-feniletil)piridin-2,4-dicarboxamida;
 (S)-N²-Metil-N⁴-(5-metil-1,3,4-oxadiazol-2-il)-6-(1-feniletil)piridin-2,4-dicarboxamida;
 (S)-N²-Metil-N⁴-(4-metil-4*H*-1,2,4-triazol-3-il)-6-(1-feniletil)piridin-2,4-dicarboxamida;
 15 (*R*^{*})-6-(Hidroxi(fenil)metil)-N²-metil-N⁴-(2-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)etil)piridin-2,4-dicarboxamida;
 (S)-N²-Metil-6-(1-feniletil)piridin-2,4-dicarboxamida;
 6-((1*H*-Indol-4-il)metil)-N²-metilpiridin-2,4-dicarboxamida;
 6-Bencil-N⁴-(1-(2-hidroxi-2-metilpropil)-1*H*-pirazol-4-il)-N²-metilpiridin-2,4-dicarboxamida;
 6-Bencil-N²-metilpiridin-2,4-dicarboxamida; o una sal del mismo.
- 20 12. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 25 13. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como se define en la reivindicación 12 y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.
14. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como se define en la reivindicación 12, para su uso en terapia.
- 30 15. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como se define en la reivindicación 12, para su uso en el tratamiento del cáncer o de una enfermedad autoinmunitaria y/o inflamatoria aguda o crónica.