

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 422 741**

51 Int. Cl.:

C07D 487/04 (2006.01)

A61K 31/517 (2006.01)

A61K 31/519 (2006.01)

A61P 1/18 (2006.01)

A61P 3/06 (2006.01)

A61P 25/16 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.12.2008 E 08859265 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.04.2013 EP 2231671**

54 Título: **Moduladores del regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística**

30 Prioridad:

13.12.2007 US 13336 P

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

13.09.2013

73 Titular/es:

**VERTEX PHARMACEUTICALS INCORPORATED
(100.0%)**

**130 WAVERLY STREET
CAMBRIDGE, MA 02139, US**

72 Inventor/es:

**BINCH, HAYLEY;
GROOTENHUIS, PETER D.J.;
PIERCE, ALBERT y
FANNING, LEV T.D.**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 422 741 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

Moduladores del regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística

5 **Campo técnico de la invención**

Los transportadores de casetes de unión a ATP son una familia de proteínas transportadoras de membrana que regulan el transporte de una amplia variedad de agentes farmacológicos, fármacos potencialmente tóxicos y xenobióticos, así como de aniones. Son proteínas de membrana homólogas que se unen a y usan el trifosfato de adenosina (ATP) celular para sus actividades específicas. Algunos de estos transportadores se descubrieron como proteínas de multirresistencia a fármacos (como la glicoproteína MDR1-P o la proteína de multirresistencia a fármacos MRP1), que defienden a las células cancerosas malignas de los agentes quimioterapéuticos. Hasta la fecha, se han identificado 48 de dichos transportadores y se han agrupado en 7 familias basándose su identidad de secuencia y función.

15 Un miembro de la familia de los transportadores de casetes de unión a ATP asociado comúnmente con la enfermedad es el canal de aniones mediado por AMPc/ATP, CFTR. El CFTR se expresa en diversos tipos celulares, incluyendo células de epitelios secretores y de absorción, en las que regula el flujo de aniones a través de la membrana, así como la actividad de otros canales iónicos y proteínas. En las células epiteliales, el funcionamiento normal del CFTR es fundamental para el mantenimiento del transporte electrolítico por todo el cuerpo, incluyendo el tejido respiratorio y digestivo. El CFTR se compone de aproximadamente 1.480 aminoácidos que codifican una proteína formada por una repetición en tándem de dominios transmembrana, conteniendo cada uno de ellos seis hélices transmembrana y un dominio de unión a nucleótidos. Los dos dominios transmembrana están unidos por un gran dominio regulador (R) polar con múltiples sitios de fosforilación que regula la actividad del canal y el tránsito celular.

25 El gen que codifica el CFTR se ha identificado y secuenciado (Véase Gregory, R. J. *et al.*, (1990) *Nature* 347: 382-386; Rich, D. P. *et al.*, (1990) *Nature* 347: 358-362), (Riordan, J. R. *et al.*, (1989) *Science* 245:1066-1073). Un defecto en este gen causa mutaciones en el CFTR que provocan fibrosis quística ("FQ"), la enfermedad genética mortal más común en seres humanos. La fibrosis quística afecta a aproximadamente uno de cada 2.500 lactantes en Estados Unidos. Dentro de la población estadounidense general, hasta 10 millones de personas portan una sola copia del gen defectuoso sin efectos patológicos evidentes. Por el contrario, los individuos con dos copias del gen asociado a la FQ padecen los efectos debilitantes y mortales de la fibrosis quística, incluyendo la enfermedad pulmonar crónica.

35 En los pacientes con fibrosis quística, las mutaciones en el CFTR expresado endógenamente en los epitelios respiratorios conducen a una reducción de la secreción apical de aniones que causa un desequilibrio en el transporte de iones y fluido. La disminución resultante en el transporte de aniones contribuye a un aumento de la acumulación de moco en el pulmón y a las infecciones microbianas acompañantes que, en última instancia, causan la muerte en los pacientes con FQ. Además de la enfermedad respiratoria, los pacientes con FQ padecen normalmente problemas gastrointestinales e insuficiencia pancreática que, si se deja sin tratar, provoca la muerte. Además, la mayoría de los hombres con fibrosis quística son infértiles, habiendo una disminución de la fertilidad entre las mujeres con fibrosis quística. Al contrario que los graves efectos de las dos copias del gen asociado a la fibrosis quística, los individuos con una sola copia del gen asociado a la FQ presentan una mayor resistencia al cólera y a la deshidratación como consecuencia de la diarrea - lo que quizás explique la frecuencia relativamente elevada del gen de la FQ dentro de la población.

45 El análisis de secuencia del gen de CFTR de los cromosomas de la FQ ha revelado diversas mutaciones causantes de la enfermedad (Cutting, G. R. *et al.*, (1990) *Nature* 346: 366-369; Dean, M. *et al.*, (1990) *Cell* 61: 863-870; y Kerem, B-S. *et al.*, (1989) *Science* 245:1073-1080; Kerem, B-S *et al.*, (1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU.* 87:8447-8451). Hasta la fecha, se han identificado más de 1.000 mutaciones causantes de la enfermedad en el gen de la fibrosis quística (<http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/>). La mutación más frecuente es una delección de fenilalanina en la posición 508 de la secuencia de aminoácidos del CFTR, y se denomina comúnmente $\Delta F508$ -CFTR. Esta mutación aparece en aproximadamente el 70 % de los casos de fibrosis quística y está asociada con una enfermedad grave. Otra mutación, la G551D-CFTR, implica la sustitución de Gly con Asp en la posición 551.

55 La mutación en CFTR impide que la proteína naciente se pliegue correctamente. Esto da como resultado la incapacidad de la proteína mutante para salir del RE y transitar hacia la membrana plasmática. Como resultado de ello, el número de canales presentes en la membrana es bastante menor del observado en las células que expresan CFTR de tipo natural. Además de la alteración del tránsito, la mutación produce una apertura y un cierre defectuosos de los canales. En conjunto, el número reducido de canales en la membrana, y la apertura y cierre defectuosos conducen a una reducción del transporte de los aniones a través de los epitelios, que conduce a un transporte defectuoso de iones y fluidos. (Quinton, P. M. (1990), *FASEB J.* 4: 2709-2727). Sin embargo, los estudios han demostrado que los números reducidos de CFTR mutado en la membrana son funcionales, aunque menos que el CFTR de tipo natural. (Dalemans *et al.*, (1991), *Nature Lond.* 354: 526-528; Denning *et al.*, *supra*; Pasyk y Foskett (1995), *J. Cell. Biochem.* 270: 12347-50). Además de $\Delta F508$ -CFTR y G551D-CFTR, otras mutaciones causantes de

enfermedad en el CFTR que producen un tránsito, una síntesis y/o una apertura y un cierre defectuosos de los canales se podrían regular positiva o negativamente para alterar la secreción de aniones y modificar la progresión de la enfermedad y/o su gravedad.

5 Aunque el CFTR transporta diversas moléculas además de aniones, es evidente que este papel (el transporte de aniones, cloruro y bicarbonato) representa un elemento en un importante mecanismo de transporte de iones y agua a través del epitelio. Los otros elementos incluyen el canal de Na^+ epitelial, ENaC, el cotransportador de $\text{Na}^+/\text{2Cl}^-/\text{K}^+$, la bomba de $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPasa}$ y los canales de K^+ de la membrana basolateral, que son responsables de la captación de cloruro en la célula.

10 Estos elementos trabajan juntos para conseguir un transporte direccional a través del epitelio mediante su expresión y localización selectiva dentro de la célula. La absorción de cloruro tiene lugar mediante la actividad coordinada del ENaC y del CFTR presentes en la membrana apical y la bomba de $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPasa}$ y los canales de Cl^- expresados en la superficie basolateral de la célula. El transporte activo secundario del cloruro desde el lado luminal conduce a la acumulación del cloruro intracelular, que después puede abandonar pasivamente la célula a través de los canales del Cl^- , produciendo un transporte vectorial. La disposición del cotransportador de $\text{Na}^+/\text{2Cl}^-/\text{K}^+$, la bomba de $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPasa}$ y los canales de K^+ de la membrana basolateral en la superficie basolateral y del CFTR en el lado luminal coordinan la secreción del cloruro mediante CFTR en el lado luminal. Debido a que el agua probablemente nunca se transporta activamente por sí misma, su flujo a través de los epitelios depende de diminutos gradientes osmóticos transepiteliales generados por el flujo masivo del sodio y cloruro.

20 Existe la hipótesis de que el transporte defectuoso del bicarbonato debido a las mutaciones en CFTR provoca defectos en ciertas funciones secretoras. Véase, por ejemplo, "Cystic fibrosis: impaired bicarbonate secretion and mucoviscidosis," Paul M. Quinton *Lancet* 2008; 372:415-417.

25 Además de la fibrosis quística, la modulación de la actividad de CFTR puede ser beneficiosa para otras enfermedades no causadas directamente por mutaciones en el CFTR, tales como enfermedades secretoras y otras enfermedades del plegamiento de proteínas mediadas por CFTR. El CFTR regula el flujo de cloruro y bicarbonato a través de los epitelios de muchas células para controlar el movimiento de fluidos, la solubilización de proteínas, la viscosidad del moco y la actividad enzimática. Los defectos en el CFTR pueden provocar el bloqueo de las vías respiratorias o conductos en muchos órganos, incluyendo el hígado y el páncreas. Cualquier enfermedad que implique el espesamiento del moco, una regulación defectuosa de los fluidos, un aclaramiento defectuoso del moco o un bloqueo de los conductos que conduzca a la inflamación y la destrucción de tejidos podría ser una posible potenciadora.

30 Estas incluyen, pero sin limitación, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), asma, EPOC inducida por el humo, bronquitis crónica, rinosinusitis, estreñimiento, la enfermedad del ojo seco y el síndrome de Sjögren. La EPOC se caracteriza por una limitación del flujo de aire que es progresiva y no totalmente reversible. La limitación del flujo de aire se debe a una hipersecreción de moco, enfisema y bronquiolitis. Los activadores del CFTR de tipo natural o mutante ofrecen un tratamiento potencial de la hipersecreción de moco y del aclaramiento mucociliar alterado que es común en la EPOC. En concreto, el aumento de la secreción de aniones a través de CFTR puede facilitar el transporte de fluido hacia el líquido de la superficie de las vías respiratorias para hidratar el moco y optimizar la viscosidad del fluido periciliar. Esto conduciría a un aumento del aclaramiento mucociliar y a una reducción de los síntomas asociados con la EPOC. La enfermedad del ojo seco se caracteriza por una disminución en la producción acuosa de la lágrima y perfiles anormales de lípidos, proteínas y mucina en la película lacrimal. Existen muchas causas del ojo seco, algunas de las cuales incluyen la edad, la cirugía ocular de Lasik, la artritis, medicaciones, quemaduras químicas/térmicas, alergias y enfermedades tales como la fibrosis quística y el síndrome de Sjögren. El aumento de la secreción de aniones a través del CFTR aumentaría el transporte de fluido desde las células endoteliales corneales y las glándulas secretoras que rodean el ojo para aumentar la hidratación corneal. Esto ayudaría a aliviar los síntomas asociados con la enfermedad del ojo seco. El síndrome de Sjögren es una enfermedad autoinmune en la que el sistema inmune ataca las glándulas productoras de humedad de todo el cuerpo, incluyendo el ojo, la boca, la piel, el tejido respiratorio, el hígado, la vagina y los intestinos. Los síntomas incluyen sequedad ocular, de boca y vaginal, así como enfermedad pulmonar. La enfermedad también está asociada con artritis reumatoide, lupus sistémico, esclerosis sistémica y polimiositis/dermatomiositis. Se cree que un tránsito de proteínas defectuoso causa la enfermedad, para la que las opciones de tratamiento son limitadas. Los moduladores de la actividad de CFTR pueden hidratar los diversos órganos afectados por la enfermedad y ayudar a elevar los síntomas asociados.

35 40 45 50 55 60 Se cree que las mutaciones en CFTR impide que la proteína naciente se pliegue correctamente, produciendo la incapacidad de esta proteína mutante para salir del RE y transitar hacia la membrana plasmática. Como resultado de ello, hay cantidades insuficientes de la proteína madura en la membrana plasmática y el transporte del cloruro dentro de los tejidos epiteliales se reduce significativamente. De hecho, se ha demostrado que este fenómeno celular de procesamiento defectuoso del RE de CFTR por la maquinaria del RE es la base subyacente, no solo de la enfermedad de FQ, sino de una amplia variedad de otras enfermedades aisladas y hereditarias. Las dos formas en las que la maquinaria del RE puede funcionar erróneamente son bien mediante la pérdida del acoplamiento con la exportación del RE de las proteínas conduciendo a su degradación, o mediante la acumulación en el RE de estas proteínas defectuosas/plegadas erróneamente (Aridor M, *et al.*, *Nature Med.*, 5(7), pág. 745-751 (1999); Shastry, B.

S., *et al.*, *Neurochem. International*, 43, pág. 1-7 (2003); Rutishauser, J., *et al.*, *Swiss Med Wkly*, 132, pág. 211-222 (2002); Morello, JP *et al.*, *TIPS*, 21, pág. 466- 469 (2000); Bross P., *et al.*, *Human Mut.*, 14, pág. 186-198 (1999)). Las enfermedades asociadas con la primera clase de funcionamiento erróneo del RE son la fibrosis quística (debida a $\Delta F508$ -CFTR plegado erróneamente, como se ha analizado anteriormente), el enfisema hereditario (debido a al-antitripsina; variantes no Piz), la hemocromatosis hereditaria, deficiencias de la coagulación-fibrinólisis tales como la deficiencia de proteína C, el angioedema hereditario de tipo 1, deficiencias en el procesamiento de lípidos tales como la hipercolesterolemia familiar, quilomicronemia de tipo 1, abetalipoproteinemia, enfermedades del almacenamiento lisosomal tales como la enfermedad de célula I/pseudo-Hurler, mucopolisacaridosis (debida a enzimas del procesamiento lisosomal), Sandhof/Tay-Sachs (debida a β -hexosaminidasa), Crigler-Najjar de tipo II (debida a la UDP-glucuronil-sialic-transferasa), poliendocrinopatía/hiperinsulinemia, diabetes mellitus (debida al receptor de insulina), enanismo de Laron (debido al receptor de hormona del crecimiento), deficiencia de mieloperoxidasa, hipoparatiroidismo primario (debido a la hormona preproparatiroidea), melanoma (debido a tirosinasa). Las enfermedades asociadas con la última clase de funcionamiento erróneo del RE son glucanosis CDG de tipo 1, enfisema hereditario (debido a la $\alpha 1$ -antitripsina (variante PiZ), hipertiroidismo congénito, osteogénesis imperfecta (debida al procolágeno de Tipo I, II, IV), hipofibrinogenemia hereditaria (debida al fibrinógeno), deficiencia de ACT (debida a la $\alpha 1$ -antiquimiotripsina), diabetes insípida (DI), DI neurofiseal (debida a la hormona vasopresina/receptor V2), DI nefrogénica (debida a la acuaporina II), síndrome de Charcot-Marie Tooth (debido a la proteína de mielina periférica 22), enfermedad de Perlizaeus-Merzbacher, enfermedades neurodegenerativas tales como enfermedad de Alzheimer (debida a la β APP y a las presenilinas), enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica, parálisis supranuclear progresiva, enfermedad de Pick, varios trastornos neurológicos de la poliglutamina tales como Huntington, ataxia espinocerebelar de tipo I, atrofia muscular espinal y bulbar, atrofia dentato-rubro-pálido-luisiana y distrofia miotónica, así como encefalopatías espongiiformes, tales como enfermedad de Creutzfeldt-Jakob hereditaria (debida a un defecto en el procesamiento de la proteína priónica), enfermedad de Fabry (debida a la α -galactosidasa A lisosomal), síndrome de Straussler-Scheinker (debido al procesamiento defectuoso de Prp), infertilidad, pancreatitis y enfermedad hepática.

Otras enfermedades implicadas por una mutación en CFTR incluyen infertilidad masculina por la ausencia bilateral congénita de los conductos deferentes (CBAVD), enfermedad pulmonar leve, pancreatitis idiopática y aspergilosis broncopulmonar alérgica (ABPA). Véase, "CFTR-opaties: disease phenotypes associated with cystic fibrosis transmembrane regulator gene mutations," Peader G. Noone y Michael R. Knowles, *Respir. Res.* 2001, 2: 328-332.

Además de la regulación positiva de la actividad de CFTR, la reducción de la secreción de aniones por moduladores del CFTR puede ser beneficiosa para el tratamiento de diarreas secretoras, en las que el transporte de agua epitelial se aumenta espectacularmente como resultado del transporte de cloruro activado por secretores. El mecanismo implica la elevación del AMPc y la estimulación del CFTR. Aunque existen numerosas causas de diarrea, las consecuencias principales de las enfermedades diarreicas, que se producen como consecuencia de un transporte de cloruro excesivo, son comunes a todas e incluyen deshidratación, acidosis, alteración del crecimiento y muerte. Las diarreas agudas y crónicas representan un problema médico muy importante en muchas zonas del mundo. La diarrea es tanto un factor importante en la malnutrición como la causa principal de mortalidad (5.000.000 muertes/año) en niños menores de cinco años.

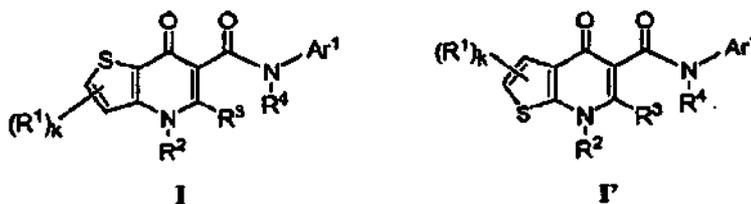
Las diarreas secretoras también son una afección peligrosa en pacientes con síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) y enfermedad inflamatoria intestinal (EII) crónica. Dieciséis millones de viajeros a países en vías de desarrollo procedentes de naciones industrializadas desarrollan diarrea cada año, variando la gravedad y el número de casos de diarrea en función del país y de la zona del viaje.

Por consiguiente, existe la necesidad de moduladores de la actividad de CFTR, y composiciones de los mismos, que se puedan usar para modular la actividad del CFTR en la membrana celular de un mamífero.

Existe la necesidad de procedimientos de tratamiento de enfermedades causadas por la mutación en CFTR usando dichos moduladores de la actividad de CFTR.

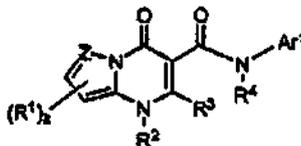
Existe la necesidad de procedimientos de modulación de la actividad de CFTR en la membrana celular de un mamífero *ex vivo*.

El documento WO 2008/147952 A1 describe moduladores del regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística de fórmula I y fórmula I':



Sumario de la invención

Ahora se ha descubierto que los compuestos de la presente invención, y las composiciones farmacéuticamente aceptables de los mismos, son útiles como moduladores de la actividad de los transportadores ABC. Estos compuestos tienen la fórmula general 1:

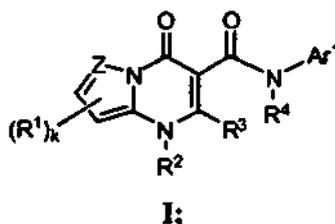


5 o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, en la que R^1 , R^2 , R^3 , R^4 y Ar^1 se describen en general y en clases y subclases que se presentan más adelante.

Estos compuestos y composiciones farmacéuticamente aceptables son útiles para tratar o reducir la gravedad de diversas enfermedades, trastornos o afecciones, incluyendo, pero sin limitación, fibrosis quística, asma, EPOC inducida por el humo, bronquitis crónica, rinosinusitis, estreñimiento, pancreatitis, insuficiencia pancreática, infertilidad masculina causada por la ausencia bilateral congénita de los conductos deferentes (CBAVD), enfermedad pulmonar leve, pancreatitis idiopática, aspergilosis broncopulmonar alérgica (ABPA), enfermedad hepática, enfisema hereditario, hemocromatosis hereditaria, deficiencias de la coagulación-fibrinólisis tales como la deficiencia de proteína C, angioedema hereditario de tipo 1, deficiencias en el procesamiento de lípidos tales como la hipercolesterolemia familiar, quilomicronemia de tipo 1, abetalipoproteinemia, enfermedades del almacenamiento lisosomal tales como enfermedad de células I/pseudo-Hurler, mucopolisacaridosis, Sandhof/Tay-Sachs, Crigler-Najjar de tipo II, poliendocrinopatía/hiperinsulinemia, diabetes mellitus, enanismo de Laron, deficiencia de mieloperoxidasa, hipoparatiroidismo primario, melanoma, glucanosis CDG de tipo I, hipertiroidismo congénito, osteogénesis imperfecta, hipofibrinogenemia hereditaria, deficiencia de ACT, diabetes insípida (DI), DI neurofiseal, DI nefrogénica, síndrome de Charcot-Marie Tooth, enfermedad de Perlizaeus-Merzbacher, enfermedades neurodegenerativas tales como enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica, parálisis supranuclear progresiva, enfermedad de Pick, varios trastornos neurológicos de poliglutamina tales como Huntington, ataxia espinocerebelar de tipo I, atrofia muscular espinal y bulbar, atrofia dentato-rubro-pálido-luisiana y distrofia miotónica, así como encefalopatías espongiiformes tales como enfermedad de Creutzfeldt-Jakob hereditaria (debida a un defecto en el procesamiento de la proteína priónica), enfermedad de Fabry, enfermedad de Straussler-Scheinker, EPOC, enfermedad del ojo seco o síndrome de Sjögren.

Descripción detallada de la invención**I. Descripción general de los compuestos de la invención:**

La presente invención se refiere a compuestos de fórmula I útiles como moduladores de la actividad de los transportadores ABC:



o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que:

Ar^1 es un anillo monocíclico aromático de 5-6 miembros que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de entre nitrógeno, oxígeno o azufre, estando dicho anillo opcionalmente condensado con un anillo aromático, parcialmente insaturado o saturado, monocíclico o bicíclico, de 5-12 miembros, conteniendo cada anillo 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de entre nitrógeno, oxígeno o azufre, en la que Ar^1 tiene m sustituyentes, cada uno seleccionado independientemente de entre $-WR^W$;

W es un enlace o es una cadena de alquilideno C_1-C_6 opcionalmente sustituida en la que hasta dos unidades de metileno de W están opcionalmente e independientemente reemplazadas por O, $-CO-$, $-CS-$, $-COCO-$, $-CONR^1-$, $-CONR^1NR^1-$, $-CO_2-$, $-OCO-$, $-NR^1CO_2-$, $-O-$, $-NR^1CONR^1-$, $-C(O)NR^1-$, $-OCONR^1-$, $-NR^1NR^1-$, $-NR^1NR^1CO-$, $-NR^1CO-$, $-S-$, $-SO-$, $-SO_2-$, $-NR^1-$, $-SO_2NR^1-$, NR^1SO_2- o $-NR^1SO_2NR^1-$;

Z es $-CH-$, $-CR^1-$ o N;

m es 0-5;

k es 0-2;

cada R^1 es independientemente $X-R^X$;

X es un enlace o es una cadena de alquilideno C_1-C_6 opcionalmente sustituida en la que hasta dos unidades de

metileno de X están opcionalmente e independientemente reemplazadas por -CO-, -CS-, -COCO-, -CONR', -CONR'NR', -CO₂-, -OCO-, -NR'CO₂-, -O-, -NR'CONR', -OCONR', -NR'NR', -NR'NR'CO-, -NR'CO-, -S-, -SO-, -SO₂-, -NR'-, -SO₂NR', NR'SO₂- o -NR'SO₂NR'-;

R^X es independientemente R', halo, NO₂, CN, CF₃ o OCF₃;

R² es hidrógeno;

R³ es hidrógeno;

R⁴ es hidrógeno o un grupo alifático C₁₋₆ opcionalmente sustituido con X-R^X;

R' se selecciona independientemente de entre hidrógeno o un grupo opcionalmente sustituido seleccionado de entre un grupo alifático C₁-C₈, un anillo monocíclico saturado, parcialmente insaturado o completamente insaturado de 3-8 miembros que tiene 0-3 heteroátomos seleccionados independientemente de entre nitrógeno, oxígeno o azufre, o un sistema de anillo bicíclico saturado, parcialmente insaturado o completamente insaturado de 8-12 miembros que tiene 0-5 heteroátomos seleccionados independientemente de entre nitrógeno, oxígeno o azufre; o dos apariciones de R' se toman junto con el/los átomo/s al/a los que están unidos para formar un anillo monocíclico o bicíclico saturado, parcialmente insaturado o completamente insaturado de 3-12 miembros opcionalmente sustituido que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de entre nitrógeno, oxígeno o azufre.

2. Compuestos y definiciones:

Los compuestos de la presente invención incluyen los descritos anteriormente de forma general, y se ilustran más detalladamente con las clases, subclases y especies divulgadas en la presente memoria. Como se usan en la presente memoria, a menos que se indique otra cosa, se aplicarán las siguientes definiciones.

La expresión "transportador ABC", como se usa en la presente memoria, significa una proteína transportadora de ABC o un fragmento de la misma que comprende al menos un dominio de unión en el que dicha proteína o dicho fragmento de la misma está presente *in vivo* o *in vitro*. La expresión "dominio de unión", como se usa en la presente memoria, significa un dominio del transportador ABC que se puede unir a un modulador. Véase, por ejemplo, Hwang, T. C. *et al.*, *J. Gen. Physiol.* (1998): 111(3), 477-90.

El término "CFTR", como se usa en la presente memoria, significa regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística, o una mutación del mismo capaz de realizar una actividad de regulación, incluyendo, pero sin limitación, ΔF508 CFTR y G551D CFTR (véase, por ejemplo, <http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/>, para mutaciones de CFTR).

El término "modular", como se usa en la presente memoria, significa aumentar o disminuir en una cantidad medible.

Para los fines de la presente invención, los elementos químicos se identifican de acuerdo con la Tabla Periódica de Elementos, versión CAS, "Handbook of Chemistry and Physics", septuagésimo quinta Ed. Además, los principios generales de la química orgánica se describen en "Organic Chemistry", Thomas Sorrell, University Science Books, Sausalito: 1999, y en "March's Advanced Organic Chemistry", quinta Ed., Ed.: Smith, M. B. y March, J., John Wiley & Sons, Nueva York: 2001.

Como se describe en la presente memoria, los compuestos de la invención pueden estar opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes, tal como se ilustra de manera general anteriormente o como se ejemplifica mediante las clases, subclases y especies particulares de la invención. Se apreciará que la expresión "opcionalmente sustituido" se usa indistintamente con la expresión "sustituido o no sustituido". En general, el término "sustituido", bien precedido por el término "opcionalmente" o no, se refiere a la sustitución de los radicales de hidrógeno de una estructura dada con el radical de un sustituyente especificado. A menos que se indique lo contrario, un grupo opcionalmente sustituido puede tener un sustituyente en cada posición sustituible del grupo, y cuando puede estar sustituida más de una posición en cualquier estructura dada con más de un sustituyente seleccionado de entre un grupo especificado, el sustituyente puede ser bien el igual o diferente en cada posición. Las combinaciones de sustituyentes previstas por la presente invención son preferentemente las que producen la formación de compuestos estables o químicamente viables. El término "estable", como se usa en la presente memoria, se refiere a compuestos que no se alteran sustancialmente cuando se someten a condiciones para permitir su producción, detección, y preferentemente su recuperación, purificación y uso para uno o más de los propósitos descritos en la presente memoria. En algunas realizaciones, un compuesto estable o compuesto químicamente viable es aquel que no se altera sustancialmente cuando se mantiene a una temperatura de 40 °C o inferior, en ausencia de humedad u otras condiciones químicamente reactivas, durante al menos una semana.

El término "alifático" o la expresión "grupo alifático", como se usa en la presente memoria, se refiere a una cadena de hidrocarburo lineal (es decir, no ramificada) o ramificada, sustituida o no sustituida, que está completamente saturada o que contiene una o más unidades de insaturación, o un hidrocarburo monocíclico o hidrocarburo bicíclico que está completamente saturado o que contiene una o más unidades de insaturación, pero que no es aromático (también denominado en la presente memoria "carbociclo", "cicloalifático" o "cicloalquilo"), que tiene un solo punto de unión con el resto de la molécula. A menos que se especifique lo contrario, los grupos alifáticos contienen 1-20 átomos de carbono alifáticos. En algunas realizaciones, los grupos alifáticos contienen 1-10 átomos de carbono alifáticos. En otras realizaciones, los grupos alifáticos contienen 1-8 átomos de carbono alifáticos. En otras

realizaciones más, los grupos alifáticos contienen 1-6 átomos de carbono alifáticos, y en aún otras realizaciones, los grupos alifáticos contienen 1-4 átomos de carbono alifáticos. En algunas realizaciones, "cicloalifático" (o "carbociclo" o "cicloalquilo") se refiere a un hidrocarburo C₃-C₈ monocíclico o hidrocarburo C₈-C₁₄ bicíclico o tricíclico que está completamente saturado o que contiene una o más unidades de insaturación, pero que no es aromático, que tiene un solo punto de unión con el resto de la molécula en el que cualquier anillo individual de dicho sistema de anillo bicíclico tiene 3-7 miembros. Los grupos alifáticos adecuados incluyen, pero sin limitación, grupos alquilo, alqueno y alquino lineales o ramificados, sustituidos o no sustituidos, e híbridos de los mismos tales como (cicloalquil)alquilo, (cicloalqueno)alquilo o (cicloalquil)alqueno. Los grupos cicloalifáticos adecuados incluyen cicloalquilo, cicloalquilo bicíclico (por ejemplo, decalina), bicicloalquilo puentado tal como norbornilo o [2.2.2]biciclo-octilo, o tricíclico puentado tal como adamantilo.

El término "heteroalifático", como se usa en la presente memoria, significa grupos alifáticos en los que uno o dos átomos de carbono están reemplazados independientemente por uno o más de entre oxígeno, azufre, nitrógeno, fósforo o silicio. Los grupos heteroalifáticos pueden ser cíclicos o acíclicos, ramificados o no ramificados, sustituidos o no sustituidos, e incluyen grupos "heterociclo", "heterociclilo", "heterocicloalifático" o "heterocíclico".

El término "heterociclo", "heterociclilo", "heterocicloalifático" o "heterocíclico", como se usa en la presente memoria, significa sistemas de anillo no aromáticos, monocíclicos, bicíclicos o tricíclicos, en los que uno o más miembros del anillo es un heteroátomo seleccionado independientemente. En algunas realizaciones, el grupo "heterociclo", "heterociclilo", "heterocicloalifático" o "heterocíclico" tiene de tres a catorce miembros en el anillo, en el que uno o más miembros del anillo son un heteroátomo independientemente seleccionado de entre oxígeno, azufre, nitrógeno o fósforo, y cada anillo del sistema contiene de 3 a 7 miembros en el anillo.

El término "heteroátomo" significa uno o más de un oxígeno, azufre, nitrógeno, fósforo o silicio (incluyendo, cualquier forma oxidada de nitrógeno, azufre, fósforo o silicio; la forma cuaternizada de cualquier nitrógeno básico o un nitrógeno sustituible de un anillo heterocíclico, por ejemplo, N (como en 3,4-dihidro-2*H*-pirrolilo), NH (como en pirrolidinilo) o NR⁺ (como en pirrolidinilo N-sustituido)).

El término "insaturado", como se usa en la presente memoria, significa que un resto tiene una o más unidades de insaturación.

El término "alcoxi" o "tioalquilo", como se usa en la presente memoria, se refiere a un grupo alquilo, como se ha definido anteriormente, unido a la cadena principal de carbono a través de un átomo de oxígeno ("alcoxi") o azufre ("tioalquilo").

Los términos "haloalifático" y "haloalcoxi" significan alifático o alcoxi, según el caso, sustituido con uno o más átomos de halógeno. El término "halógeno" o "halo" significa F, Cl, Br o I. Los ejemplos de haloalifático incluyen -CHF₂, -CH₂F, -CF₃, -CF₂- o perhaloalquilo tales como -CF₂CF₃.

El término "arilo" usado solo o como parte de un resto mayor como en "aralquilo", "aralcoxi" o "ariloxialquilo", se refiere a sistemas de anillos monocíclicos, bicíclicos y tricíclicos que tienen un total de cinco a catorce miembros por anillo, en el que al menos un anillo del sistema es aromático y en el que cada anillo del sistema contiene de 3 a 7 miembros en el anillo. El término "arilo" se puede usar indistintamente con la expresión "anillo arilo". El término "arilo" también se refiere a sistemas de anillos heteroarilo como se define en la presente memoria a continuación.

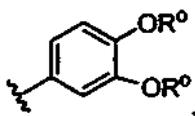
El término "heteroarilo", usado solo o como parte de un resto mayor como en "heteroaralquilo" o "heteroarilalcoxi", se refiere a sistemas de anillos monocíclicos, bicíclicos y tricíclicos que tienen un total de cinco a catorce miembros en el anillo, en el que al menos un anillo del sistema es aromático, al menos un anillo del sistema contiene uno o más heteroátomos y en el que cada anillo del sistema contiene de 3 a 7 miembros en el anillo. El término "heteroarilo" se puede usar indistintamente con la expresión "anillo heteroarilo" o el término "heteroaromático".

Un grupo arilo (incluyendo aralquilo, aralcoxi, ariloxialquilo y similares) o heteroarilo (incluyendo heteroaralquilo y heteroarilalcoxi y similares) puede contener uno o más sustituyentes. Los sustituyentes adecuados en el átomo de carbono insaturado de un grupo arilo o heteroarilo se seleccionan de entre halo; R^o; -OR^o; -SR^o; 1,2-metilendioxi; 1,2-etilendioxi; fenilo (Ph) opcionalmente sustituido con R^o; -O(Ph) opcionalmente sustituido con R^o; -(CH₂)₁₋₂(Ph) opcionalmente sustituido con R^o; -CH=CH(Ph) opcionalmente sustituido con R^o; -NO₂; -CN; -N(R^o)₂; -NR^oC(O)R^o; -NR^oC(O)N(R^o)₂; -NR^oCO₂R^o; -NR^oNR^oC(O)R^o; -NR^oNR^oC(O)N(R^o)₂; -NR^oNR^oCO₂R^o; -C(O)C(O)R^o; -C(O)CH₂C(O)R^o; -CO₂R^o; -C(O)R^o; -C(O)N(R^o)₂; -OC(O)N(R^o)₂; -S(O)₂R^o; -SO₂N(R^o)₂; -S(O)R^o; -NR^oSO₂N(R^o)₂; -NR^oSO₂R^o; -C(=S)N(R^o)₂; -C(=NH)-N(R^o)₂; o -(CH₂)₀₋₂NHC(O)R^o en el que cada aparición independiente de R^o se selecciona de entre hidrógeno, grupo alifático C₁₋₆ opcionalmente sustituido, un anillo heteroarilo o heterocíclico no sustituido de 5-6 miembros, fenilo, -O(Ph) o -CH₂(Ph), o, a pesar de la definición anterior, dos apariciones independientes de R^o, en el mismo sustituyente o en sustituyentes distintos, tomadas junto con el/los átomo/s a los que cada grupo R^o está unido, forman un anillo cicloalquilo, heterociclilo, arilo o heteroarilo de 3-8 miembros que tiene 0-3 heteroátomos seleccionados independientemente de entre nitrógeno, oxígeno o azufre. Los sustituyentes opcionales del grupo alifático de R^o se seleccionan de entre NH₂, NH(alifático C₁₋₄), N(alifático C₁₋₄)₂, halo, alifático en C₁₄, OH, O (alifático C₁₋₄), NO₂, CN, CO₂H, CO₂(alifático C₁₋₄), O(haloalifático C₁₋₄) o haloalifático C₁₋₄, estando cada uno de los grupos alifáticos C₁₋₄ anteriores de R^o sin sustituir.

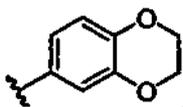
- Un grupo alifático o heteroalifático, o un anillo heterocíclico no aromático puede contener uno o más sustituyentes. Los sustituyentes adecuados en el carbono saturado de un grupo alifático o heteroalifático, o de un anillo heterocíclico no aromático se seleccionan de entre los enumerados anteriormente para el carbono insaturado de un grupo arilo o heteroarilo, e incluyen además los siguientes: =O, =S, =NNHR⁺, =NN(R⁺)₂, =NNHC(O)R⁺, =NNHCO₂(alquilo), =NNHSO₂(alquilo) o =NR⁺, donde cada R⁺ se selecciona independientemente de entre hidrógeno o un alifático en C₁₋₆ opcionalmente sustituido. Los sustituyentes opcionales del grupo alifático de R⁺ se seleccionan de entre NH₂, NH(alifático C₁₋₄), N(alifático C₁₋₄)₂, halo, alifático en C₁₋₄, OH, O(alifático C₁₋₄), NO₂, CN, CO₂H, CO₂(alifático C₁₋₄), O(haloalifático C₁₋₄) o halo(alifático C₁₋₄), en los que cada grupo alifático C₁₋₄ anterior de R⁺ está sin sustituir.
- Los sustituyentes opcionales en el nitrógeno de un anillo heterocíclico no aromático se seleccionan de entre -R⁺, -N(R⁺)₂, -C(O)R⁺, -CO₂R⁺, -C(O)C(O)R⁺, -C(O)CH₂C(O)R⁺, -SO₂R⁺, -SO₂N(R⁺)₂, -C(=S)N(R⁺)₂, -C(=NH)-N(R⁺)₂ o -NR⁺SO₂R⁺; en los que R⁺ es hidrógeno, un alifático en C₁₋₆ opcionalmente sustituido, fenilo opcionalmente sustituido, -O(Ph) opcionalmente sustituido, -CH₂(Ph) opcionalmente sustituido, -(CH₂)₁₋₂(Ph) opcionalmente sustituido; -CH=CH(Ph) opcionalmente sustituido; o un anillo heteroarilo o heterocíclico no sustituido de 5-6 miembros que tiene de uno a cuatro heteroátomos seleccionados independientemente de entre oxígeno, nitrógeno o azufre, o, a pesar de la definición anterior, dos apariciones independientes de R⁺, en el mismo o en diferentes sustituyentes, tomados junto con el/los átomos al/a los que cada grupo R⁺ está unido, forman un anillo cicloalquilo, heterociclilo, arilo o heteroarilo de 3-8 miembros que tiene 0-3 heteroátomos seleccionados independientemente de entre nitrógeno, oxígeno o azufre. Los sustituyentes opcionales del grupo alifático o del anillo fenilo de R⁺ se seleccionan de entre NH₂, NH(alifático C₁₋₄), N(alifático C₁₋₄)₂, halo, alifático C₁₋₄, OH, O(alifático C₁₋₄), NO₂, CN, CO₂H, CO₂(alifático C₁₋₄), O(haloalifático C₁₋₄) o halo(alifático C₁₋₄), en los que cada uno de los grupos alifáticos C₁₋₄ de R⁺ está sin sustituir.

La expresión "cadena de alquilideno" se refiere a una cadena de carbono lineal o ramificada que puede estar completamente saturada o tener una o más unidades de insaturación y que tiene dos puntos de unión al resto de la molécula. El término "espirocicloalquilideno" se refiere a un anillo carbocíclico que puede estar totalmente saturado o tener una o más unidades de insaturación y tiene dos puntos de unión del mismo átomo de carbono del anillo con el resto de la molécula.

Como se ha detallado anteriormente, en algunas realizaciones, dos apariciones independientes de R^o (o R⁺, o cualquier otra variable definida de manera similar en la presente memoria), se toman conjuntamente junto con el/los átomo/s al/a los que cada variable está unida para formar un anillo cicloalquilo, heterociclilo, arilo o heteroarilo de 3-8-miembros que tiene 0-3 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno o azufre. Los anillos a modo de ejemplo que se forman cuando dos apariciones independientes de R^o (o R⁺, o cualquier otra variable definida de manera similar en la presente memoria) se toman junto con el/los átomo/s al/a los que cada variable está unida incluyen, pero sin limitación, los siguientes: a) dos apariciones independientes de R^o (o R⁺, o cualquier otra variable definida de manera similar en la presente memoria) que están unidos al mismo átomo y se toman junto con ese átomo para formar un anillo, por ejemplo, N(R^o)₂, donde ambas apariciones de R^o se toman junto con el átomo de nitrógeno para formar un grupo piperidin-1-ilo, piperazin-1-ilo o morfolin-4-ilo; y b) dos apariciones independientes de R^o (o R⁺, o cualquier otra variable definida de manera similar en la presente memoria) que están unidos a diferentes átomos y se toman junto con esos dos átomos para formar un anillo, por ejemplo, donde un grupo fenilo está sustituido con dos apariciones de OR^o

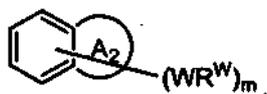


estas dos apariciones de R^o se toman junto con los átomos de oxígeno a los que están unidos para formar un anillo condensado que contiene oxígeno de 6 miembros:

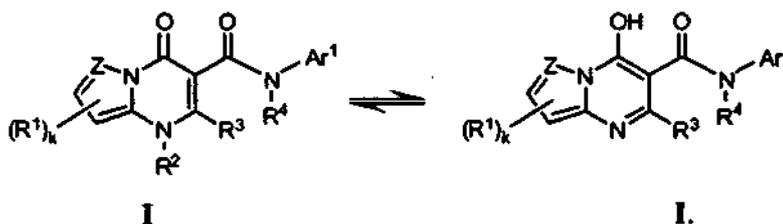


Se apreciará que se puede formar otros varios anillos cuando se toman dos apariciones independientes de R^o (o R⁺, o cualquier otra variable definida de manera similar en la presente memoria) junto con el/los átomo/s al/a los que cada variable está unida, y que los ejemplos detallados anteriormente no pretenden ser restrictivos.

Un sustituyente unido en, por ejemplo, un sistema de anillo bicíclico, como se muestra a continuación, significa que el sustituyente puede estar unido a cualquier átomo del anillo sustituible o a cualquier anillo del sistema de anillo bicíclico:



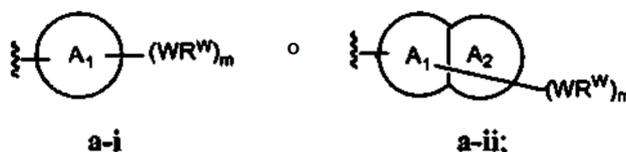
A menos que se especifique lo contrario, las estructuras representadas en la presente memoria también pretenden incluir todas las formas isoméricas (por ejemplo, enantioméricas, diastereoméricas y geométricas (o conformacionales)) de la estructura; por ejemplo, las configuraciones R y S para cada centro asimétrico, isómeros de doble enlace (Z) y (E) e isómeros conformacionales (Z) y (E). Por lo tanto, los isómeros estereoquímicos individuales, así como las mezclas enantioméricas, diastereoméricas y geométricas (o conformacionales) de los presentes compuestos están dentro del alcance de la invención. A menos que se indique lo contrario, todas las formas tautoméricas de los compuestos de la invención están dentro del alcance de la invención. Por ejemplo, cuando R² de los compuestos de fórmula I es hidrógeno, los compuestos de fórmula I pueden existir como tautómeros:



Por otra parte, a menos que se indique otra cosa, las estructuras representadas en la presente memoria también pretenden incluir compuestos que solo difieren en la presencia de uno o más átomos enriquecidos isotópicamente. Por ejemplo, los compuestos que tienen las presentes estructuras excepto por la sustitución de hidrógeno con deuterio o tritio, o la sustitución de un carbono con un carbono enriquecido en ¹³C o ¹⁴C están dentro del alcance de la presente invención. Dichos compuestos son útiles, por ejemplo, como herramientas o sondas analíticas en ensayos biológicos.

3. Descripción y compuestos a modo de ejemplo:

En algunas realizaciones de la presente invención, Ar¹ se selecciona de entre:



en las que el anillo A₁ es un anillo monocíclico aromático de 5-6 miembros que tiene 0-4 heteroátomos independientemente seleccionado de entre nitrógeno, oxígeno o azufre, o

A₁ y A₂, conjuntamente, son un anillo arilo aromático, bicíclico o tricíclico de 8-14 miembros, en el que cada anillo contiene 0-4 heteroátomos independientemente seleccionados de entre nitrógeno, oxígeno o azufre.

En algunas realizaciones, A₁ es un anillo aromático de 6 miembros opcionalmente sustituido que tiene 0-4 heteroátomos, en el que dicho heteroátomo es nitrógeno. En algunas realizaciones, A₁ es un fenilo opcionalmente sustituido; o A₁ es un piridilo, pirimidinilo, pirazinilo o triazinilo opcionalmente sustituido; o A₁ es un pirazinilo o triazinilo opcionalmente sustituido; o A₁ es un piridilo opcionalmente sustituido.

En algunas realizaciones, A₁ es un anillo aromático de 5 miembros opcionalmente sustituido que tiene 0-3 heteroátomos, en el que dicho heteroátomo es nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, A₁ es un anillo aromático de 5 miembros opcionalmente sustituido que tiene 1-2 átomos de nitrógeno.

En algunas realizaciones, A₂ es un anillo aromático de 6 miembros opcionalmente sustituido que tiene 0-4 heteroátomos, en el que dicho heteroátomo es nitrógeno. En algunas realizaciones, A₂ es un fenilo opcionalmente sustituido; o A₂ es un piridilo, pirimidinilo, pirazinilo o triazinilo opcionalmente sustituido.

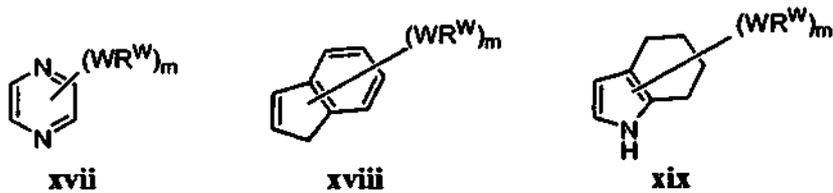
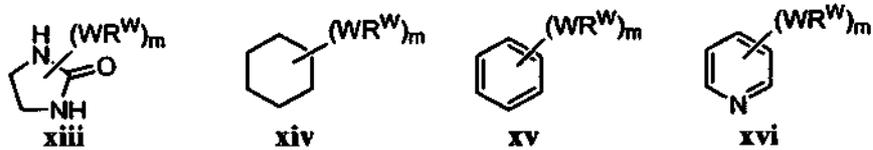
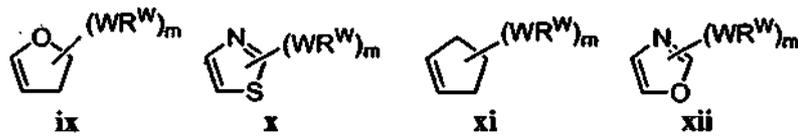
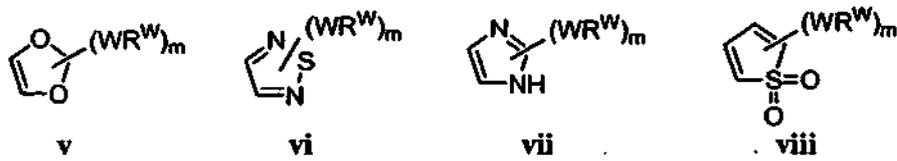
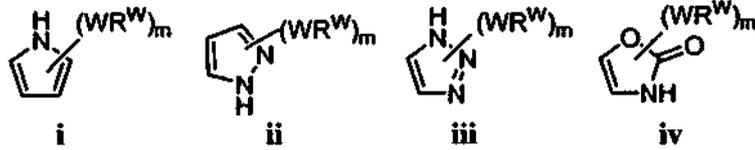
En algunas realizaciones, A₂ es un anillo aromático de 5 miembros opcionalmente sustituido que tiene 0-3 heteroátomos, en el que dicho heteroátomo es nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, A₂ es un anillo aromático de 5 miembros opcionalmente sustituido que tiene 1-2 átomos de nitrógeno. En ciertas realizaciones, A₂ es un pirrolilo opcionalmente sustituido.

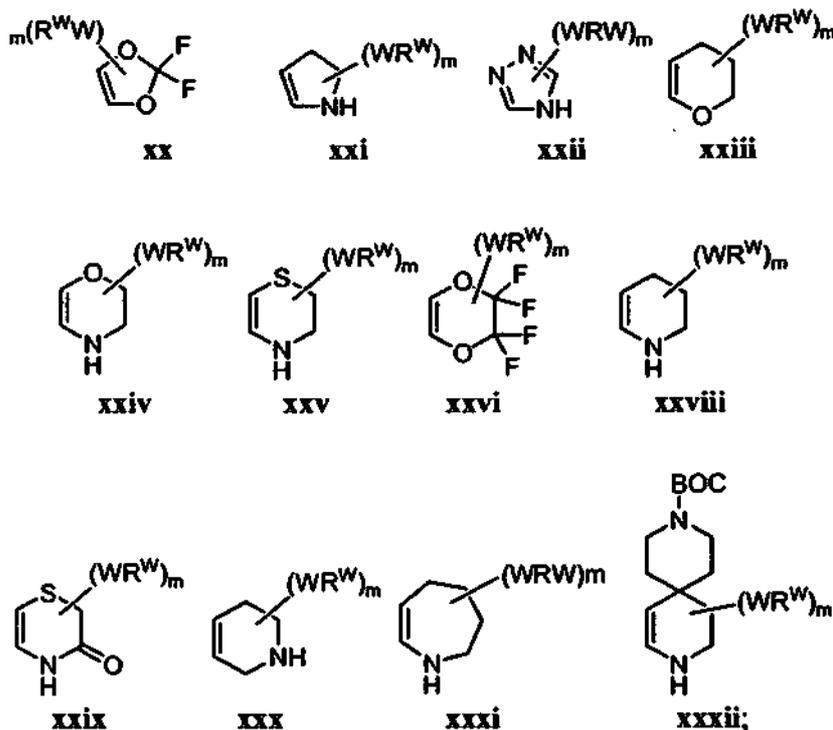
En algunas realizaciones, A₂ es un anillo heterocíclico saturado o insaturado opcionalmente sustituido de 5-7 miembros que tiene 1-3 heteroátomos seleccionados independientemente de entre nitrógeno, azufre u oxígeno. Los

ejemplos de dichos anillos incluyen piperidilo, piperazilo, morfolinilo, tiomorfolinilo, pirrolidinilo, tetrahidrofuranoilo, etc.

5 En algunas realizaciones, A₂ es un anillo carbocíclico saturado o insaturado opcionalmente sustituido de 5-10 miembros. En una realización, A₂ es un anillo carbocíclico saturado opcionalmente sustituido de 5-10 miembros. Los ejemplos de dichos anillos incluyen ciclohexilo, ciclopentilo, etc.

En algunas realizaciones, el anillo A₂ se selecciona de entre:





en los que el anillo A₂ está condensado con el anillo A₁ a través de dos átomos adyacentes de los anillos.

- 5 En otras realizaciones, W es un enlace o es una cadena alquilideno C₁-C₆ opcionalmente sustituida, en la que hasta dos unidades de metileno de W están opcionalmente e independientemente reemplazadas por O, -CO-, -CS-, -COCO-, -CONR', -CONR'NR', -CO₂-, -OCO-, -NR'CO₂-, -O-, -NR'CONR', -C(O)NR', -OCONR', -NR'NR', -NR'NR'CO-, -NR'CO-, -S-, -SO-, -SO₂-, -NR', -SO₂NR', NR'SO₂- o -NR'SO₂NR', y R^W es R' o halo.

- 10 En otras realizaciones más, cada aparición de WR^W es independientemente -alquilo C₁-C₃, *t*-butilo, perhaloalquilo C₁-C₃, -OH, -O(alquilo C₁-C₃), -CF₃, -OCF₃, -SCF₃, -F, -Cl, -Br o -COOR', -COR', -O(CH₂)₂N(R')(R'), -O(CH₂)N(R')(R'), -CON(R')(R'), -(CH₂)₂OR', -(CH₂)OR', anillo heterocíclico de 5-7 miembros opcionalmente sustituido, grupo cicloalifático de 5-7 miembros opcionalmente sustituido, anillo aromático monocíclico o bicíclico opcionalmente sustituido, arilsulfona opcionalmente sustituida, anillo heteroarilo de 5 miembros opcionalmente sustituido, -N(R')(R'), -(CH₂)₂N(R')(R'), -C≡CCH₂N(R')(R') o -(CH₂)N(R')(R').

- 15 En una realización de Ar¹ de las fórmulas a-i, el anillo A₁ es un anillo fenilo, m es 2 y cada WR^W es independientemente -CF₃ o anillo heterocíclico de 5-7 miembros opcionalmente sustituido.
- En una realización de Ar¹ de las fórmulas a-i, el anillo A₁ es un anillo fenilo, m es 3 y cada WR^W es independientemente -OH o *t*-butilo.

- En una realización de Ar¹ de las fórmulas a-i, el anillo A₁ es un anillo fenilo, m es 2 o 3 y cada WR^W es independientemente -OH, -CF₃ o grupo cicloalifático de 5-7 miembros opcionalmente sustituido.

- 20 En una realización de Ar¹ de las fórmulas a-i, el anillo A₁ es un anillo fenilo, m es 2 o 3 y cada WR^W es independientemente -OH, -F o grupo cicloalifático de 5-7 miembros opcionalmente sustituido.

En algunas realizaciones, m es 0; o m es 1; o m es 2. En algunas realizaciones, m es 3. En otras realizaciones más, m es 4.

En una realización de la presente invención, R¹, R², R³ y R⁴ son simultáneamente hidrógeno.

En otra realización de la presente invención, k es 1 o 2 y cada R¹ es independientemente alquilo C₁-C₃.

- 25 En una realización, k es 1 y R¹ es alquilo C₁-C₃.

En una realización, k es 1 y R¹ es metilo.

En una realización, k es 1 y R¹ es etilo.

En una realización, k es 1 y R¹ es halo.

En una realización, k es 1 y R^1 es CF_3 .

En algunas realizaciones, X es un enlace o es una cadena alquilideno C_{1-6} opcionalmente sustituida, en la que una o dos unidades de metileno no adyacentes están opcionalmente e independientemente reemplazadas por O , NR' , S , SO_2 o COO , CO , y R^X es R' o halo. En otras realizaciones más, cada aparición de XR^X es independientemente reemplazada por $-alquilo C_{1-3}$, $-O(alquilo C_{1-3})$, $-CF_3$, $-OCF_3$, $-SCF_3$, $-F$, $-Cl$, $-Br$, OH , $-COOR'$, $-COR'$, $-O(CH_2)_nN(R')(R')$, $-O(CH_2)_nN(R')(R')$, $-CON(R')(R')$, $-(CH_2)_2OR'$, $-(CH_2)OR'$, fenilo opcionalmente sustituido, $-N(R')(R')$, $-(CH_2)_2N(R')(R')$ o $-(CH_2)_nN(R')(R')$.

En una realización, R^1 es H , alifático en C_1-C_4 , halo, o cicloalifático en C_3-C_6 .

En algunas realizaciones, R^4 es hidrógeno. En otras ciertas realizaciones, R^4 es alifático en C_{1-4} lineal o ramificado.

En algunas realizaciones, R^W se selecciona de entre halo, ciano, CF_3 , CHF_2 , $OCHF_2$, Me , Et , $CH(Me)_2$, $CHMeEt$, n -propilo, t -butilo, $-OH$, OMe , OEt , OPh , O -fluorofenilo, O -difluorofenilo, O -metoxifenilo, O -tolilo, O -bencilo, SMe , SCF_3 , $SCHF_2$, SEt , CH_2CN , NH_2 , $NHMe$, $N(Me)_2$, $NHEt$, $N(Et)_2$, $C(O)CH_3$, $C(O)Ph$, $C(O)NH_2$, SPh , SO_2 -(aminopiridilo), SO_2NH_2 , SO_2Ph , SO_2NHPH , SO_2 - N -morfolino, SO_2 - N -pirrolidilo, N -pirrolilo, N -morfolino, 1 -piperidilo, fenilo, bencilo, (ciclohexil-metilamino)metilo, 4 -metil- $2,4$ -dihidro-pirazol- 3 -ona- 2 -ilo, benzoimidazol- 2 -ilo, furan- 2 -ilo, 4 -metil- $4H$ -[$1,2,4$]triazol- 3 -ilo, 3 -($4'$ -clorofenil)-[$1,2,4$]oxadiazol- 5 -ilo, $NHC(O)Me$, $NHC(O)Et$, $NHC(O)Ph$, $NHSO_2Me$, 2 -indolilo, 5 -indolilo, $-CH_2CH_2OH$, $-OCF_3$, O -($2,3$ -dimetilfenilo), 5 -metilfurolo, $-SO_2$ - N -piperidilo, 2 -tolilo, 3 -tolilo, 4 -tolilo, O -butilo, $NHCO_2C(Me)_3$, $CO_2C(Me)_3$, isopropenilo, n -butilo, O -($2,4$ -diclorofenilo), $NHSO_2PhMe$, O -(3 -cloro- 5 -trifluorometil- 2 -piridilo), fenilhidroximetilo, 2 -metilpirrolilo, 3 -fluoropirrolilo, $3,3$ -difluoropirrolilo, $3,3$ -dimetilpirrolilo, $2,5$ -dimetilpirrolilo, $NHCOCH_2C(Me)_3$, O -(2 -*terc*-butil)fenilo, $2,3$ -dimetilfenilo, $3,4$ -dimetilfenilo, 4 -hidroximetilfenilo, 4 -dimetilaminofenilo, 2 -trifluorometilfenilo, 3 -trifluorometilfenilo, 4 -trifluorometilfenilo, 4 -cianometilfenilo, 4 -isobutilfenilo, 3 -piridilo, 4 -piridilo, 4 -isopropilfenilo, 3 -isopropilfenilo, 2 -metoxifenilo, 3 -metoxifenilo, 4 -metoxifenilo, $3,4$ -metilendioxifenilo, 2 -etoxifenilo, 3 -etoxifenilo, 4 -etoxifenilo, 2 -metiltiofenilo, 4 -metiltiofenilo, $2,4$ -dimetoxifenilo, $2,5$ -dimetoxifenilo, $2,6$ -dimetoxifenilo, $3,4$ -dimetoxifenilo, 5 -cloro- 2 -metoxifenilo, 2 - OCF_3 -fenilo, 3 -trifluorometoxi-fenilo, 4 -trifluorometoxifenilo, 2 -fenoxifenilo, 4 -fenoxifenilo, 2 -fluoro- 3 -metoxi-fenilo, $2,4$ -dimetoxi- 5 -pirimidilo, 5 -isopropil- 2 -metoxifenilo, 2 -fluorofenilo, 3 -fluorofenilo, 4 -fluorofenilo, 3 -cianofenilo, 3 -clorofenilo, 4 -clorofenilo, $2,3$ -difluorofenilo, $2,4$ -difluorofenilo, $2,5$ -difluorofenilo, $3,4$ -difluorofenilo, $3,5$ -difluorofenilo, 3 -cloro- 4 -fluoro-fenilo, $3,5$ -diclorofenilo, $2,5$ -diclorofenilo, $2,3$ -diclorofenilo, $3,4$ -diclorofenilo, $2,4$ -diclorofenilo, 3 -metoxicarbonilfenilo, 4 -metoxicarbonilfenilo, 3 -isopropiloxicarbonilfenilo, 3 -acetamidofenilo, 4 -fluoro- 3 -metilfenilo, 4 -metanosulfinil-fenilo, 4 -metanosulfonilfenilo, 4 - N -(2 - N,N -dimetilaminoetil)carbamoilfenilo, 5 -acetil- 2 -tienilo, 2 -benzotienilo, 3 -benzotienilo, furan- 3 -ilo, 4 -metil- 2 -tienilo, 5 -ciano- 2 -tienilo, N' -fenilcarbonil- N -piperazinilo, $-NHCO_2Et$, $-NHCO_2Me$, N -pirrolidinilo, $-NHSO_2(CH_2)_2N$ -piperidina, $-NHSO_2(CH_2)_2N$ -morfolina, $-NHSO_2(CH_2)_2N(Me)_2$, $COCH_2N(Me)COCH_2NHMe$, $-CO_2Et$, O -propilo, $-CH_2CH_2NHCO_2C(Me)_3$, aminometilo, pentilo, adamantilo, ciclopentilo, etoxietilo, $C(Me)_2CH_2OH$, $C(Me)_2CO_2Et$, $-CHOHMe$, CH_2CO_2Et , $-C(Me)_2CH_2NHCO_2C(Me)_3$, $O(CH_2)_2OEt$, $O(CH_2)_2OH$, CO_2Me , hidroximetilo, 1 -metil- 1 -ciclohexilo, 1 -metil- 1 -ciclooctilo, 1 -metil- 1 -cicloheptilo, $C(Et)_2C(Me)_3$, $C(Et)_3$, $CONHCH_2CH(Me)_2$, 2 -aminometil-fenilo, etenilo, 1 -piperidinilcarbonilo, etinilo, ciclohexilo, 4 -metilpiperidinilo, $-OCO_2Me$, $-C(Me)_2CH_2NHCO_2CH_2CH(Me)_2$, $-C(Me)_2CH_2NHCO_2CH_2CH_2CH_3$, $C(Me)_2CH_2NHCO_2Et$, $-C(Me)_2CH_2NHCO_2Me$, $-C(Me)_2CH_2NHCO_2CH_2C(Me)_3$, $-CH_2NHCOCF_3$, $-CH_2NHCO_2C(Me)_3$, $-C(Me)_2CH_2NHCO_2(CH_2)_3CH_3$, $C(Me)_2CH_2NHCO_2(CH_2)_2OMe$, $C(OH)(CF_3)_2$, $-C(Me)_2CH_2NHCO_2CH_2$ -tetrahidrofuran- 3 -ilo, $C(Me)_2CH_2O(CH_2)OMe$ o 3 -etil- $2,6$ -dioxopiperidin- 3 -ilo.

En una realización, R' es hidrógeno.

En una realización, R' es un grupo alifático C_1-C_8 opcionalmente sustituido con hasta 3 sustituyentes seleccionados de entre halo, CN , CF_3 , CHF_2 , OCF_3 o $OCHF_2$, en EL que hasta dos unidades de metileno de dicho alifático en C_1-C_8 están opcionalmente reemplazadas por $-CO-$, $-CONH(alquilo C_1-C_4)-$, $-CO_2-$, $-OCO-$, $-N(alquilo C_1-C_4)CO_2-$, $-O-$, $-N(alquilo C_1-C_4)CON(alquilo C_1-C_4)-$, $-OCON(alquilo C_1-C_4)-$, $-N(alquilo C_1-C_4)CO-$, $-S-$, $-N(alquilo C_1-C_4)-$, $-SO_2N(alquilo C_1-C_4)-$, $N(alquilo C_1-C_4)SO_2-$ o $-N(alquilo C_1-C_4)SO_2N(alquilo C_1-C_4)-$.

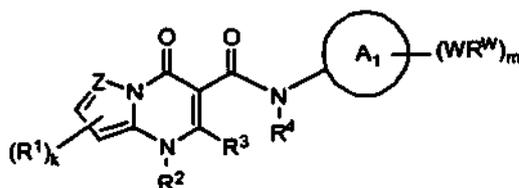
En una realización, R' es un anillo monocíclico saturado, parcialmente insaturado o completamente insaturado de 3 - 8 miembros que tiene 0 - 3 heteroátomos seleccionados independientemente de entre nitrógeno, oxígeno o azufre, donde R' está opcionalmente sustituido con hasta 3 sustituyentes seleccionados de entre halo, CN , CF_3 , CHF_2 , OCF_3 , $OCHF_2$ o alquilo C_1-C_6 , en el que hasta dos unidades de metileno de dicho alquilo C_1-C_6 están opcionalmente reemplazadas por $-CO-$, $-CONH(alquilo C_1-C_4)-$, $-CO_2-$, $-OCO-$, $-N(alquilo C_1-C_4)CO_2-$, $-O-$, $-N(alquilo C_1-C_4)CON(alquilo C_1-C_4)-$, $-OCON(alquilo C_1-C_4)-$, $-N(alquilo C_1-C_4)CO-$, $-S-$, $-N(alquilo C_1-C_4)-$, $-SO_2N(alquilo C_1-C_4)-$, $N(alquilo C_1-C_4)SO_2-$ o $-N(alquilo C_1-C_4)SO_2N(alquilo C_1-C_4)-$.

En una realización, R' es un sistema de anillo bicíclico saturado, parcialmente insaturado o completamente insaturado de 8 - 12 miembros que tiene 0 - 5 heteroátomos seleccionados independientemente de entre nitrógeno, oxígeno o azufre; donde R' está opcionalmente sustituido con hasta 3 sustituyentes seleccionados de entre halo, CN , CF_3 , CHF_2 , OCF_3 , $OCHF_2$ o alquilo C_1-C_6 , en el que hasta dos unidades de metileno de dicho alquilo C_1-C_6 están opcionalmente reemplazadas por $-CO-$, $-CONH(alquilo C_1-C_4)-$, $-CO_2-$, $-OCO-$, $-N(alquilo C_1-C_4)CO_2-$, $-O-$, $-N(alquilo C_1-C_4)CON(alquilo C_1-C_4)-$, $-OCON(alquilo C_1-C_4)-$, $-N(alquilo C_1-C_4)CO-$, $-S-$, $-N(alquilo C_1-C_4)-$, $-SO_2N(alquilo C_1-C_4)-$, $N(alquilo C_1-C_4)SO_2-$ o $-N(alquilo C_1-C_4)SO_2N(alquilo C_1-C_4)-$.

En una realización, dos apariciones de R' se toman junto con el/los átomo/s al/a los que están unidos para formar un anillo monocíclico o bicíclico saturado, parcialmente insaturado o completamente insaturado de 3-12 miembros que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de entre nitrógeno, oxígeno o azufre, donde R' está opcionalmente sustituido con hasta 3 sustituyentes seleccionados de entre halo, CN, CF₃, CHF₂, OCF₃, OCHF₂ o alquilo C₁-C₆, en el que hasta dos unidades de metileno de dicho alquilo C₁-C₆ están opcionalmente reemplazadas por -CO-, -CONH(alquilo C₁-C₄)-, -CO₂-, -OCO-, -N(alquil C₁-C₄)CO₂-, -O-, -N(alquil C₁-C₄)CON(alquilo C₁-C₄)-, -OCON(alquilo C₁-C₄)-, -N(alquil C₁-C₄)CO-, -S-, -N(alquilo C₁-C₄)-, -SO₂N(alquilo C₁-C₄)-, N(alquil C₁-C₄)SO₂- o -N(alquil C₁-C₄)SO₂N(alquilo C₁-C₄)-.

5

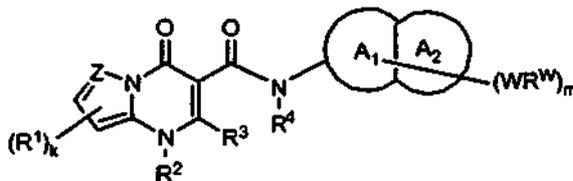
De acuerdo con una realización, la presente invención proporciona compuestos de fórmula **IIA**:



10

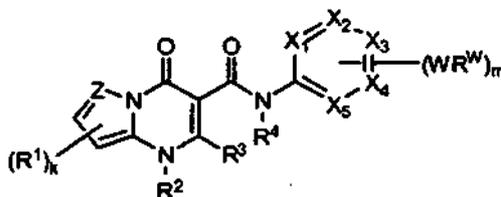
IIA

De acuerdo con una realización, la presente invención proporciona compuestos de fórmula **IIB**:



IIB

De acuerdo con una realización, la presente invención proporciona compuestos de fórmula **IIIA**:

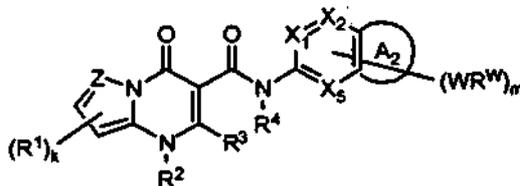


15

IIIA

en la que cada de X₁, X₂, X₃, X₄ y X₅ se selecciona independientemente de entre CH o N.

De acuerdo con una realización, la presente invención proporciona compuestos de fórmula **IIIB**:

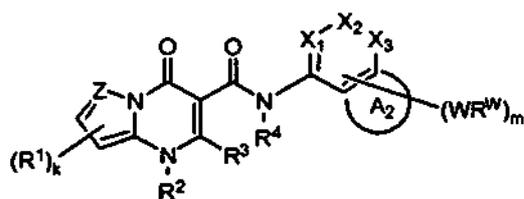


IIIB

en la que cada de X₁, X₂ y X₅ se selecciona independientemente de entre CH o N.

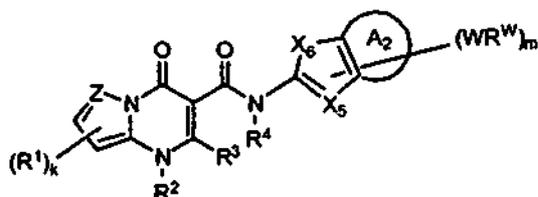
20

De acuerdo con una realización, la presente invención proporciona compuestos de fórmula **IIIC**:

**III C**

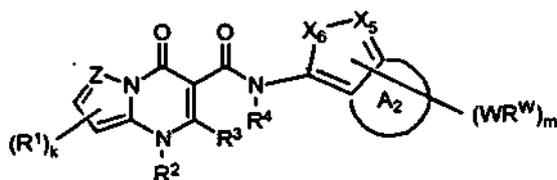
en la que cada de X_1 , X_2 y X_3 se selecciona independientemente de entre CH o N.

De acuerdo con una realización, la presente invención proporciona compuestos de fórmula **IIID**:

**IIID**

5 en la que X_5 se selecciona independientemente de entre CH o N y X_6 es O, S o NR' .

De acuerdo con una realización, la presente invención proporciona compuestos de fórmula **IIIE**:

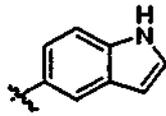
**IIIE**

en la que X_5 se selecciona independientemente de entre CH o N y X_6 es O, S o NR' .

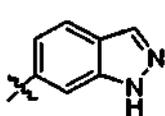
En algunas realizaciones de fórmula **IIIA**, cada X_1 , X_2 , X_3 , X_4 y X_5 es CH.

10 En algunas realizaciones de fórmula **IIIA**, X_1 , X_2 , X_3 , X_4 y X_5 tomados conjuntamente son un anillo opcionalmente sustituido seleccionado de entre piridilo, pirazinilo o pirimidinilo.

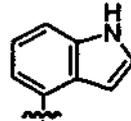
En algunas realizaciones de fórmula **IIIB**, o fórmula **IIIC**, X_1 , X_2 , X_3 o X_5 , tomados junto con el anillo A_2 son un anillo opcionalmente sustituido seleccionado de entre:



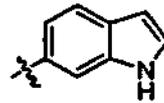
b-i



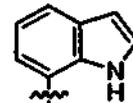
b-ii



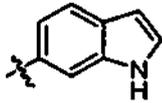
b-iii



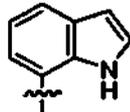
b-iv



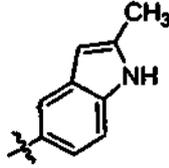
b-v



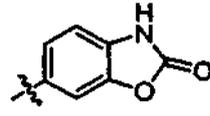
b-vi



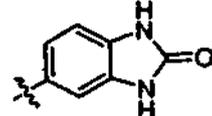
b-vii



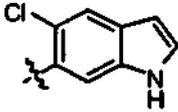
b-viii



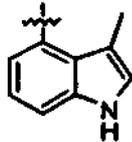
b-ix



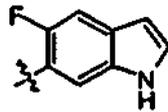
b-x



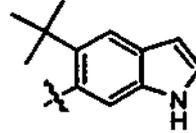
b-xi



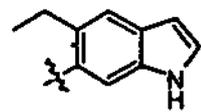
b-xii



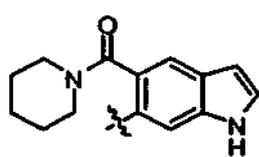
b-xiii



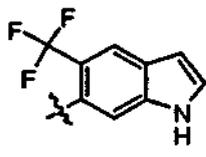
b-xiv



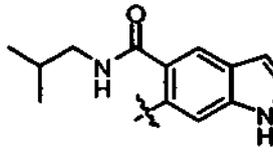
b-xv



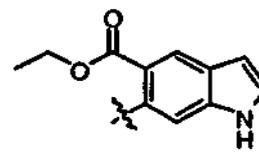
b-xvi



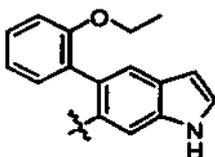
b-xvii



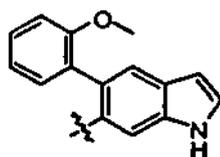
b-xviii



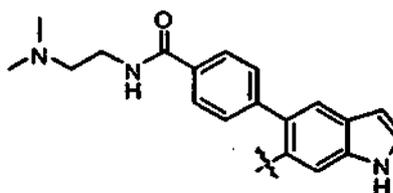
b-xix



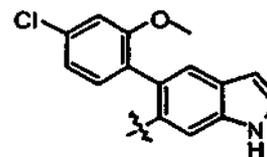
b-xx



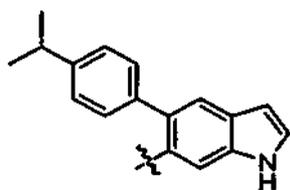
b-xxi



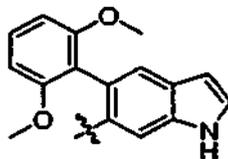
b-xxii



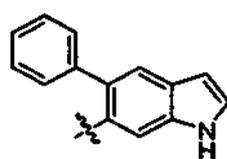
b-xxiii



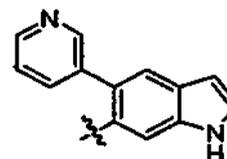
b-xxiv



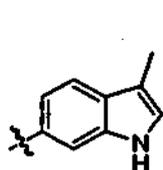
b-xxv



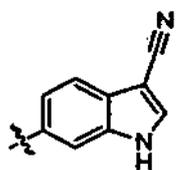
b-xxvi



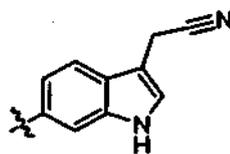
b-xxvii



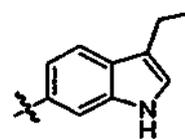
b-xxviii



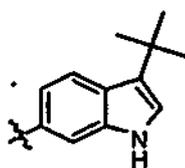
b-xxix



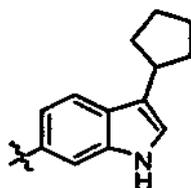
b-xxx



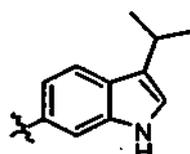
bxxx



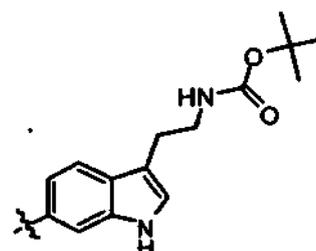
b-xxxii



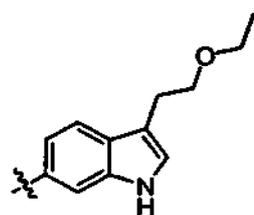
b-xxxiii



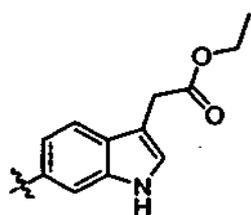
b-xxxiv



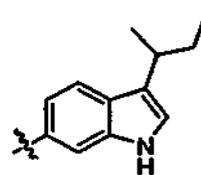
b-xxxv



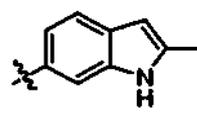
b-xxxvi



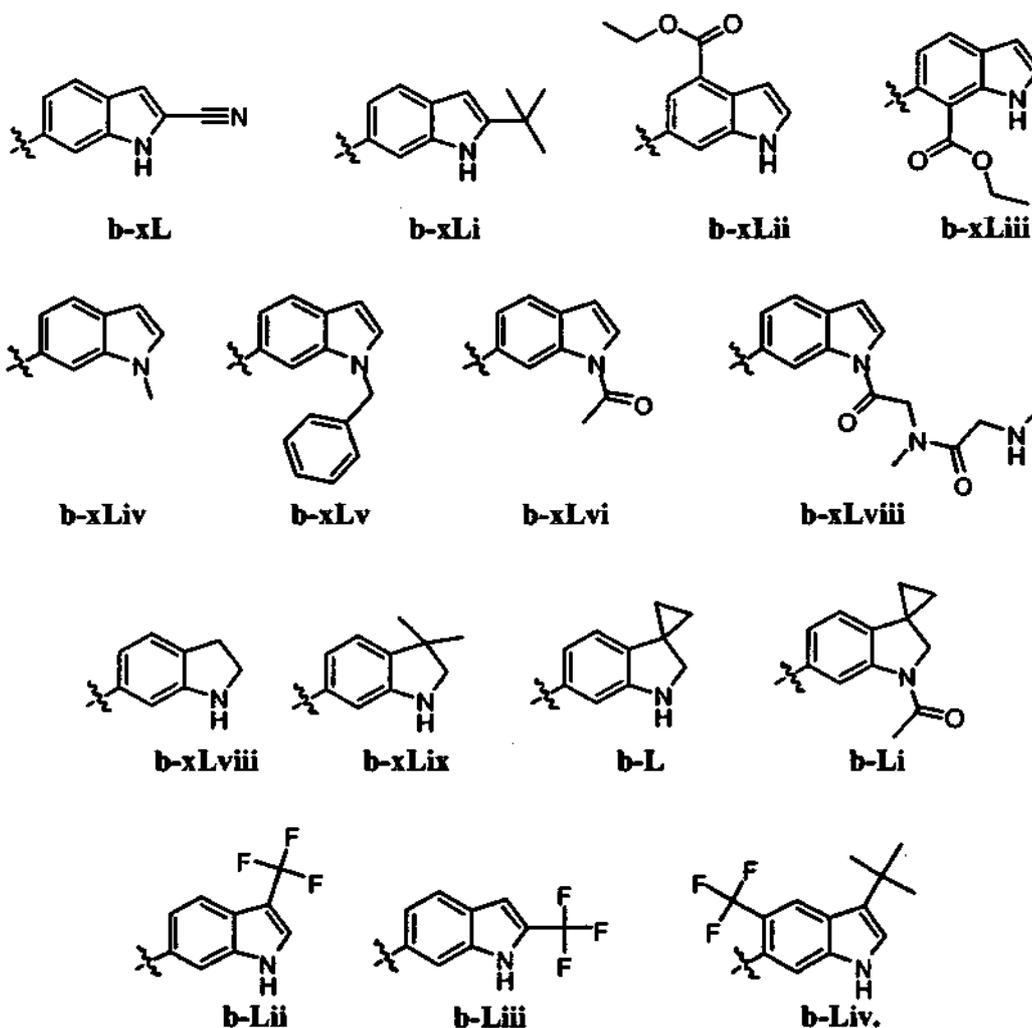
b-xxxvii



b-xxxviii



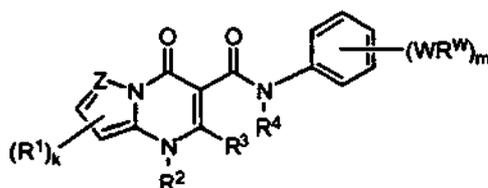
bxxxix



- 5 En algunas realizaciones, R^W se selecciona de entre halo, ciano, CF_3 , CHF_2 , $OCHF_2$, Me, Et, $CH(Me)_2$, $CHMeEt$, *n*-propilo, *t*-butilo, OH, OMe, OEt, OPh, O-fluorofenilo, O-difluorofenilo, O-metoxifenilo, O-tolilo, O-bencilo, SMe, SCF_3 , $SCHF_2$, SEt, CH_2CN , NH_2 , $NHMe$, $N(Me)_2$, $NHEt$, $N(Et)_2$, $C(O)CH_3$, $C(O)Ph$, $C(O)NH_2$, SPh, SO_2 -(amino-piridilo), SO_2NH_2 , SO_2Ph , SO_2NPh , SO_2 -N-morfolino, SO_2 -N-pirrolidilo, N-pirrolilo, N-morfolino, 1-piperidilo, fenilo, bencilo, (ciclohexil-metilamino)metilo, 4-metil-2,4-dihidro-pirazol-3-ona-2-ilo, benzoimidazol-2-ilo, furan-2-ilo, 4-metil-4*H*-[1,2,4]triazol-3-ilo, 3-(4'-clorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-5-ilo, $NHC(O)Me$, $NHC(O)Et$, $NHC(O)Ph$ o $NHSO_2Me$.

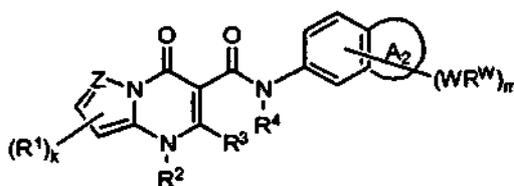
En algunas realizaciones, X y R^X , tomados conjuntamente, son Me, Et, halo, CN, CF_3 , OH, OMe, OEt, $SO_2N(Me)$ (fluorofenilo), SO_2 -(4-metil-piperidin-1-ilo) o SO_2 -N-pirrolidinilo.

- 10 De acuerdo con otra realización, la presente invención proporciona compuestos de fórmula IVA:



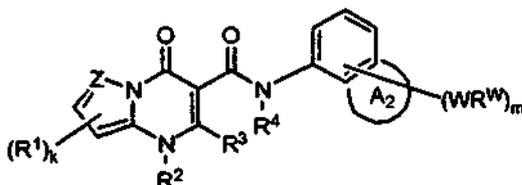
IVA.

De acuerdo con otra realización, la presente invención proporciona compuestos de fórmula IVB:



IVB.

De acuerdo con otra realización, la presente invención proporciona compuestos de fórmula **IVC**:



IVC.

5 En una realización, la presente invención proporciona compuestos de fórmula **IVA**, fórmula **IVB** o fórmula **IVC**, en las que k es 1 y R^1 es H, Me, Et o halo. En otra realización, k es 1 y R^1 es Me. En otra realización, k es 1 y R^1 es Et.

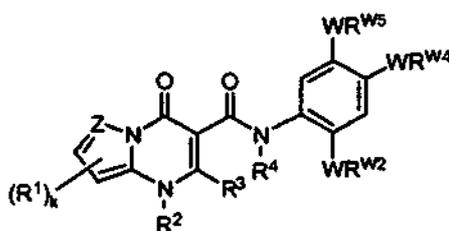
En una realización, la presente invención proporciona compuestos de fórmula **IVB** o fórmula **IVC**, en las que el anillo A_2 es un anillo de siete miembros saturado, insaturado o aromático, opcionalmente sustituido con 0-3 heteroátomos seleccionados de entre O, S o N. Anillos a modo de ejemplo incluyen azepanilo, 5,5-dimetil-azepanilo, etc.

10 En una realización, la presente invención proporciona compuestos de fórmula **IVB** o fórmula **IVC**, en las que el anillo A_2 es un anillo de seis miembros saturado, insaturado o aromático, opcionalmente sustituido con 0-3 heteroátomos seleccionados de entre O, S o N. Anillos a modo de ejemplo incluyen piperidinilo, 4,4-dimetilpiperidinilo, etc.

En una realización, la presente invención proporciona compuestos de fórmula **IVB** o fórmula **IVC**, en las que el anillo A_2 es un anillo de cinco miembros saturado, insaturado o aromático, opcionalmente sustituido con 0-3 heteroátomos seleccionados de entre O, S o N.

15 En una realización, la presente invención proporciona compuestos de fórmula **IVB** o fórmula **IVC**, en las que el anillo A_2 es un anillo de cinco miembros opcionalmente sustituido con un átomo de nitrógeno, por ejemplo, pirrolidinilo.

De acuerdo con una realización de fórmula **IVA**, se proporciona el siguiente compuesto de fórmula **VA-1**:



VA-1

20 en la que cada de WR^{W2} y WR^{W4} se selecciona independientemente de entre hidrógeno, CN, CF_3 , OCF_3 , halo, alquilo C_1 - C_6 lineal o ramificado, cicloalifático de 3-12 miembros, fenilo, heteroarilo C_5 - C_{10} o heterocíclico C_3 - C_7 , teniendo dicho heteroarilo o heterocíclico hasta 3 heteroátomos seleccionados de entre O, S o N, en la que dicho WR^{W2} y WR^{W4} está independiente y opcionalmente sustituido con hasta tres sustituyentes seleccionados de entre

25 $-OR'$, $-CF_3$, $-OCF_3$, SR' , $S(O)R'$, SO_2R' , $-SCF_3$, halo, CN, $-COOR'$, $-COR'$, $-O(CH_2)_2N(R')(R')$, $-O(CH_2)N(R')(R')$, $-CON(R')(R')$, $-(CH_2)_2OR'$, $-(CH_2)OR'$, CH_2CN , fenilo o fenoxi opcionalmente sustituido, $-N(R')(R')$, $-NR'C(O)OR'$, $-NR'C(O)R'$, $-(CH_2)_2N(R')(R')$ o $-(CH_2)N(R')(R')$; y WR^{W5} se selecciona de entre hidrógeno, halo, $-OH$, NH_2 , CN, CHF_2 , NHR' , $N(R')_2$, $-NHC(O)R'$, $-NHC(O)OR'$, $NHSO_2R'$, $-OR'$, CH_2OH , $CH_2N(R')_2$, $C(O)OR'$, $C(O)N(R')_2$, SO_2NHR' , $SO_2N(R')_2$, $OSO_2N(R')_2$, OSO_2CF_3 o $CH_2NHC(O)OR'$; o WR^{W4} y WR^{W5} tomados conjuntamente forman un anillo de

30 5-7 miembros que contiene 0-3 heteroátomos seleccionados de entre N, O o S, estando dicho anillo opcionalmente sustituido con hasta tres sustituyentes WR^W .

En una realización, la presente invención proporciona compuestos de fórmula **VA-1**, en la que k es 0.

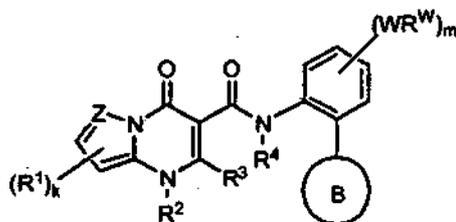
En una realización, la presente invención proporciona compuestos de fórmula **VA-1**, en la que k es 1 y R^1 es halo.

En una realización, la presente invención proporciona compuestos de fórmula **VA-1**, en la que k es 1 y R¹ es alquilo C₁-C₃.

En una realización, la presente invención proporciona compuestos de fórmula **VA-1**, en la que k es 1 y R¹ es Me.

En una realización, la presente invención proporciona compuestos de fórmula **VA-1**, en la que k es 1 y R¹ es etilo.

5 En otra realización, la presente invención proporciona compuestos de fórmula **VA-2**:



VA-2

en la que:

el anillo B es un anillo heterocíclico o heteroarilo, monocíclico o bicíclico, de 5-7 miembros opcionalmente sustituido con hasta n apariciones de -Q-R^Q;

10 Q es W;

R^Q es R^W;

m es 0-4;

n es 0-4; y

R¹, k, W, Z y R^W son como se han definido anteriormente.

15 En una realización, m es 0-2; o m es 0; o m es 1.

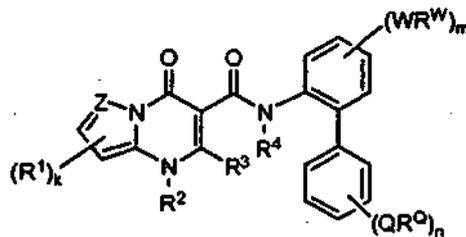
En una realización, n es 0-2; o n es 0; o n es 1.

En otra realización, el anillo B es un anillo heterocíclico, monocíclico de 5-7 miembros que tiene hasta 2 heteroátomos seleccionados de entre O, S o N, opcionalmente sustituido con hasta n apariciones de -Q-R^Q. Anillos heterocíclicos a modo de ejemplo incluyen N-morfolinilo, N-piperidinilo, 4-benzoil-piperazin-1-ilo, pirrolidin-1-ilo o 4-metil-piperidin-1-ilo.

20 En otra realización, el anillo B es un anillo heteroarilo, monocíclico de 5-6 miembros que tiene hasta 2 heteroátomos seleccionados de entre O, S o N, opcionalmente sustituido con hasta n apariciones de -Q-R^Q. Los ejemplos de dichos incluyen bencimidazol-2-ilo, 5-metil-furan-2-ilo, 2,5-dimetil-pirrol-1-ilo, piridina-4-ilo, indol-5-ilo, indol-2-ilo, 2,4-dimetoxi-pirimidin-5-ilo, furan-2-ilo, furan-3-ilo, 2-acil-tien-2-ilo, benzotiofen-2-ilo, 4-metil-tien-2-ilo, 5-ciano-tien-2-ilo, 3-cloro-5-trifluorometil-piridin-2-ilo.

25

En otra realización de fórmula **IVA**, la presente invención proporciona compuestos de fórmula **VA-3**:



VA-3

en la que:

30 Q es W;

R^Q es R^W;

m es 0-4;

n es 0-4; y

R¹, k, W, Z y R^W son como se han definido anteriormente.

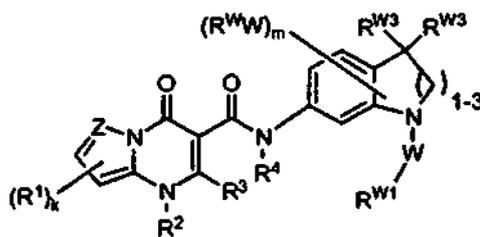
En una realización, n es 0-2.

En otra realización, m es 0-2. En una realización, m es 0. En una realización, m es 1; o m es 2.

- 5 En una realización, QR^Q tomado en conjunto es halo, CF_3 , OCF_3 , CN, alifático en C_1-C_6 , O-alifático C_1-C_6 , O-fenilo, NH(alifático C_1-C_6), o N(alifático C_1-C_6)₂, en el que dicho alifático y fenilo están opcionalmente sustituidos con hasta tres sustituyentes seleccionados de entre alquilo C_1-C_6 , O-alquilo C_1-C_6 , halo, ciano, OH o CF_3 , en el que hasta dos unidades de metileno de dicho alifático en C_1-C_6 o alquilo C_1-C_6 están opcionalmente reemplazadas por $-CO-$, $-CONR^r-$, $-CO_2-$, $-OCO-$, $-NR^rCO_2-$, $-O-$, $-NR^rCONR^r-$, $-OCONR^r-$, $-NR^rCO-$, $-S-$, $-NR^r-$, SOR^r , SO_2R^r , $-SO_2NR^r-$, NR^rSO_2- o $-NR^rSO_2NR^r-$. En otra realización, R^r anterior es alquilo C_1-C_4 .

QR^Q a modo de ejemplo incluyen metilo, isopropilo, *sec*-butilo, hidroximetilo, CF_3 , NMe_2 , CN, CH_2CN , flúor, cloro, OEt, OMe, SMe, OCF_3 , OPh, $C(O)OMe$, $C(O)O-iPr$, $S(O)Me$, $NHC(O)Me$ o $S(O)_2Me$.

- 10 En otra realización, la presente invención proporciona compuestos de fórmula **VB-1**:



VB-1

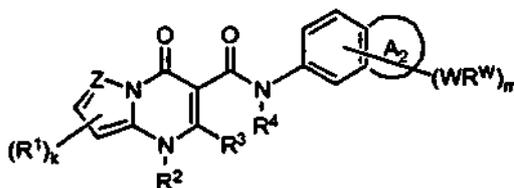
en la que:

- 15 R^{W1} es hidrógeno o alifático en C_1-C_6 ;
 cada de R^{W3} es hidrógeno o alifático en C_1-C_6 ; o
 ambos R^{W3} tomados conjuntamente forman un anillo heterocíclico o cicloalquilo C_3-C_6 que tiene hasta dos heteroátomos seleccionados de entre O, S o NR^r , estando dicho anillo opcionalmente sustituido con hasta dos sustituyentes WR^W ;
 m es 0-4; y
 k, R^1 , W, Z y R^W son como se han definido anteriormente.

- 20 En una realización, WR^{W1} es hidrógeno, alifático en C_1-C_6 , $C(O)$ alifático C_1-C_6 o $C(O)O$ -alifático C_1-C_6 .

- 25 En otra realización, cada R^{W3} es hidrógeno, alquilo C_1-C_4 ; o ambos R^{W3} tomados conjuntamente forman un anillo cicloalifático C_3-C_6 o un anillo heterocíclico de 5-7 miembros que tiene hasta dos heteroátomos seleccionados de entre O, S o N, estando dicho anillo cicloalifático o heterocíclico opcionalmente sustituido con hasta tres sustituyentes seleccionados de entre WR^{W1} . Los ejemplos de dichos anillos incluyen ciclopropilo, ciclopentilo, piperidilo opcionalmente sustituido, etc.

En otra realización, la presente invención proporciona compuestos de fórmula **VB-2**:



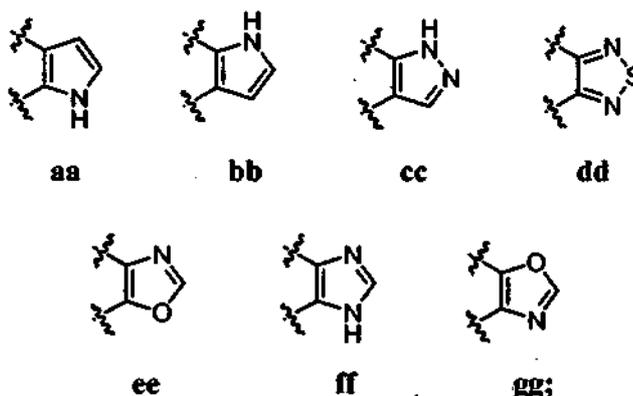
VB-2

en la que:

- 30 el anillo A_2 es un fenilo o un anillo heteroarilo de 5-6 miembros, en la que el anillo A_2 y el anillo fenilo condensados entre sí tienen hasta 4 sustituyentes seleccionados independientemente de entre WR^W ;
 m es 0-4; y
 W, R^W , Z, k y R^1 son como se han definido anteriormente.

En una realización, el anillo A_2 es un anillo de 5 miembros opcionalmente sustituido seleccionado de entre pirrolilo, furanilo, tienilo, pirazolilo, imidazolilo, tiazolilo, oxazolilo, tiadiazolilo, oxadiazolilo o triazolilo.

- 35 En una realización, el anillo A_2 es un anillo de 5 miembros opcionalmente sustituido seleccionado de entre pirrolilo, pirazolilo, tiadiazolilo, imidazolilo, oxazolilo o triazolilo. Los ejemplos de dichos anillos incluyen:



estando dicho anillo opcionalmente sustituido como se ha expuesto anteriormente.

En otra realización, el anillo A₂ es un anillo de 6 miembros opcionalmente sustituido. Los ejemplos de dichos anillos incluyen piridilo, pirazinilo o triazinilo. En otra realización, dicho anillo es piridilo opcionalmente sustituido.

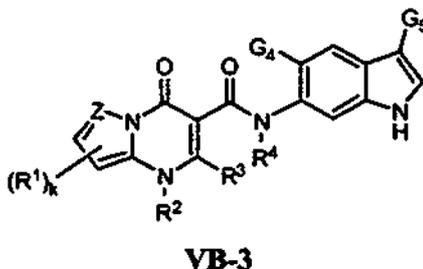
- 5 En una realización, el anillo A₂ es fenilo.

En otra realización, el anillo A₂ es pirrolilo, pirazolilo, piridilo o tiadiazolilo.

W a modo de ejemplo de las fórmulas **VB-2** incluyen un enlace C(O), C(O)O o alqueno C₁-C₆.

- 10 R^W a modo de ejemplo de las fórmulas **VB-2** incluyen ciano, halo, alifático en C₁-C₆, cicloalifático en C₃-C₆, arilo, anillo heterocíclico de 5-7 miembros que tiene hasta dos heteroátomos seleccionados de entre O, S o N, estando dichos alifático, fenilo y heterocíclico independiente y opcionalmente sustituidos con hasta tres sustituyentes seleccionados de entre alquilo C₁-C₆, O-alquilo C₁-C₆, halo, ciano, OH o CF₃, estando hasta dos unidades de metileno de dicho alifático en C₁-C₆ o alquilo C₁-C₆ opcionalmente reemplazadas por -CO-, -CONR', -CO₂-, -OCO-, -NR'CO₂-, -O-, -NR'CONR', -OCONR', -NR'CO-, -S-, -NR', -SO₂NR', NR'SO₂- o -NR'SO₂NR'. En otra realización, R' anterior es alquilo C₁-C₄.

- 15 En una realización, la presente invención proporciona compuestos de fórmula **VB-3**:



en la que:

- 20 G₄ es hidrógeno, halo, CN, CF₃, CHF₂, CH₂F, alifático en C₁-C₆ opcionalmente sustituido, aril-alquilo C₁-C₆, o un fenilo, en la que G₄ está opcionalmente sustituido con hasta 4 sustituyentes WR^W; estando hasta dos unidades de metileno de dicho alifático en C₁-C₆ o alquilo C₁-C₆ opcionalmente reemplazadas por -CO-, -CONR', -CO₂-, -OCO-, -NR'CO₂-, -O-, -NR'CONR', -OCONR', -NR'CO-, -S-, NR', -SO₂NR', NR'SO₂- o -NR'SO₂NR';

G₅ es hidrógeno, un alifático en C₁-C₆ opcionalmente sustituido, CF₃ o CN; estando dicho sistema de anillo indol además opcionalmente sustituido con hasta 3 sustituyentes seleccionados independientemente de entre WR^W.

En una realización, G₄ es hidrógeno; o G₅ es hidrógeno.

- 25 En otra realización, G₄ es hidrógeno y G₅ es alifático en C₁-C₆, CF₃ o CN, estando dicho alifático opcionalmente sustituido con alquilo C₁-C₆, halo, ciano o CF₃, y estando hasta dos unidades de metileno de dicho alifático en C₁-C₆ o alquilo C₁-C₆ opcionalmente reemplazadas por -CO-, -CONR', -CO₂-, -OCO-, -NR'CO₂-, -O-, NR'CONR', -OCONR', -NR'CO-, -S-, -NR', -SO₂NR', NR'SO₂- o -NR'SO₂NR'. En otra realización, R' anterior es alquilo C₁-C₄.

- 30 En otra realización, G₄ es hidrógeno y G₅ es ciano, CF₃, metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, *sec*-butilo, *t*-butilo, cianometilo, metoxietilo, CH₂C(O)OMe, (CH₂)₂-NHC(O)O-*terc*-butilo o ciclopentilo.

En otra realización, G₅ es hidrógeno y G₄ es halo, alifático en C₁-C₆ o fenilo, estando dicho alifático o fenilo opcionalmente sustituido con alquilo C₁-C₆, halo, ciano o CF₃, estando hasta dos unidades de metileno de dicho

alifático en C₁-C₆ o alquilo C₁-C₆ opcionalmente reemplazadas por -CO-, -CONR', -CO₂-, -OCO-, -NR'CO₂-, -O-, -NR'CONR', -OCONR', -NR'CO-, -S-, -NR'-, -SO₂NR'-, NR'SO₂- o -NR'SO₂NR'-. En otra realización, R' anterior es alquilo C₁-C₄.

- 5 En otra realización, G₅ es hidrógeno y G₄ es halo, CF₃, etoxicarbonilo, *t*-butilo, 2-metoxifenilo, 2-etoxifenilo, (4-C(O)NH(CH₂)₂-NMe₂)-fenilo, 2-metoxi-4-cloro-fenilo, piridina-3-ilo, 4-isopropilfenilo, 2,6-dimetoxifenilo, *sec*-butilaminocarbonilo, etilo, *t*-butilo o piperidin-1-ilcarbonilo.

- 10 En otra realización, G₄ y G₅ son los dos hidrógeno, y el átomo de nitrógeno de dicho anillo indol está sustituido con alifático en C₁-C₆, C(O)(alifático C₁-C₆) o bencilo, estando dicho alifático o bencilo opcionalmente sustituido con alquilo C₁-C₆, halo, ciano o CF₃, estando hasta dos unidades de metileno de dicho alifático en C₁-C₆ o alquilo C₁-C₆ opcionalmente reemplazadas por -CO-, -CONR', -CO₂-, -OCO-, -NR'CO₂-, -O-, -NR'CONR', -OCONR', -NR'CO-, -S-, -NR'-, -SO₂NR'-, NR'SO₂- o -NR'SO₂NR'-. En otra realización, R' anterior es alquilo C₁-C₄.

En otra realización, G₄ y G₅ son los dos hidrógeno, y el átomo de nitrógeno de dicho anillo indol está sustituido con acilo, bencilo, C(O)CH₂N(Me)C(O)CH₂NHMe o etoxicarbonilo.

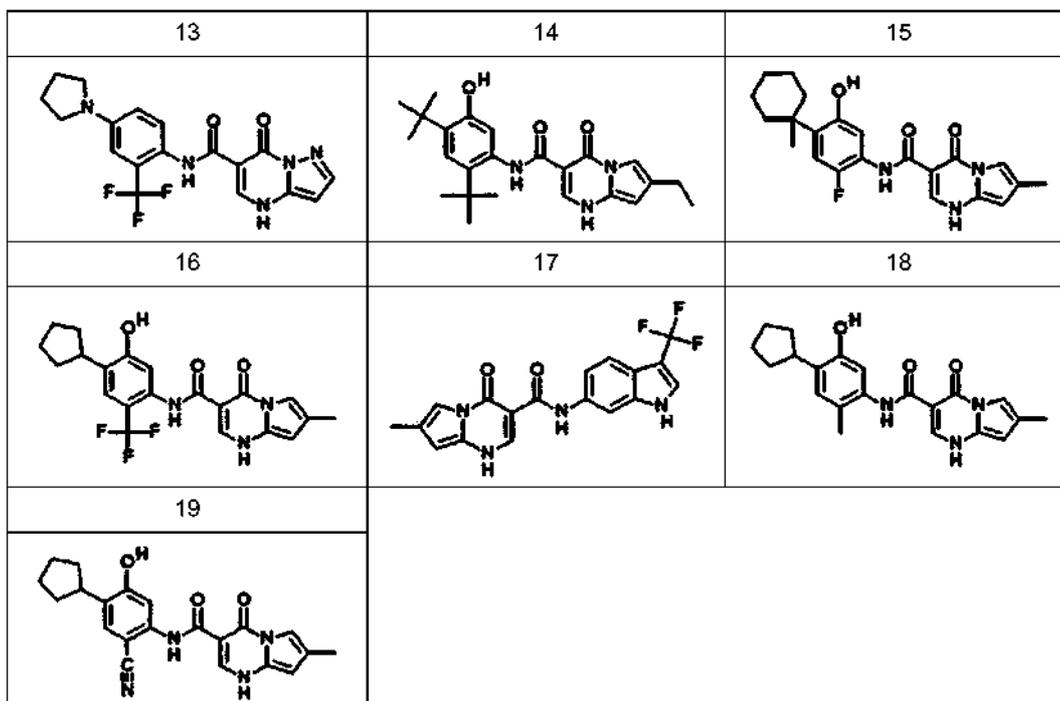
A continuación, se exponen los compuestos representativos de la presente invención en la siguiente Tabla 1.

15

Tabla 1

1	2	3
4	5	6
7	8	9
10	11	12

(Continuación)



4. Esquemas de síntesis generales

- 5 Los compuestos de la presente invención se preparan fácilmente mediante procedimientos conocidos en la técnica. En los ejemplos que se presentan más adelante en la presente memoria, se ilustran procedimientos a modo de ejemplo para la preparación de compuestos de la presente invención.

5. Usos, formulación y administración

Composiciones farmacéuticamente aceptables

- 10 En un aspecto de la presente invención, se proporcionan composiciones farmacéuticamente aceptables; composiciones que comprenden cualquiera de los compuestos descritos en la presente memoria y, opcionalmente, comprenden un vehículo o adyuvante farmacéuticamente aceptable. En ciertas realizaciones, estas composiciones comprenden opcionalmente además uno o más agentes terapéuticos adicionales.

- 15 También se apreciará que ciertos de los compuestos de la presente invención pueden existir en forma libre para el tratamiento, o cuando sea apropiado, como un derivado farmacéuticamente aceptable o un profármaco de los mismos. De acuerdo con la presente invención, un derivado farmacéuticamente aceptable o un profármaco incluye, pero sin limitación, sales, ésteres, sales de dichos ésteres, o cualquier otro aducto o derivado que, tras su administración a un paciente que lo necesite, sea capaz de proporcionar, directa o indirectamente, un compuesto descrito de otro modo en la presente memoria, o un metabolito o resto del mismo.

- 20 Como se usa en la presente memoria, la expresión "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a aquellas sales que, dentro del alcance del buen juicio médico, son adecuadas para usarse en contacto con los tejidos de seres humanos y animales inferiores sin provocar toxicidad, irritación, respuesta alérgica y similares excesivas, y corresponden a una relación de beneficio/riesgo razonable. Una "sal farmacéuticamente aceptable" significa cualquier sal no tóxica o sal de un éster de un compuesto de la presente invención que, tras su administración a un receptor, es capaz de proporcionar, directa o indirectamente, un compuesto de la presente invención o un metabolito activo como inhibidor o resto del mismo.

- 25 Las sales farmacéuticamente aceptables son muy conocidas en la técnica. Por ejemplo, S. M. Berge, *et al.*, describen sales farmacéuticamente aceptables en detalle en *J. Pharmaceutical Sciences*, 1977, 66, 1-19. Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de la presente invención incluyen las derivadas de ácidos y bases orgánicas e inorgánicas adecuadas. Ejemplos de sales de adición de ácido no tóxicas farmacéuticamente aceptables son las sales de un grupo amino formadas con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico y ácido perclórico, o con ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido oxálico, ácido maleico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido succínico o ácido malónico, o mediante otros procedimientos usados en la técnica tales como intercambio de iones. Otras sales farmacéuticamente aceptables incluyen sales de

adipato, alginato, ascorbato, aspartato, bencenosulfonato, benzoato, bisulfato, borato, butirato, canforato, canforsulfonato, citrato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, edisilato (etanodisulfonato), etanosulfonato, formiato, fumarato, glucoheptonato, glicerofosfato, gluconato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, yodhidrato, 2-hidroxietanosulfonato, lactobionato, lactato, laurato, laurilsulfato, malato, maleato, malonato, metanosulfonato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, nitrato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, fosfato, picrato, pivalato, propionato, estearato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato, *p*-toluenosulfonato, undecanoato, valerato y similares. Las sales derivadas de bases apropiadas incluyen sales de metal alcalino, metal alcalinotérreo, amonio y N⁺(alquilo C₁₋₄)₄. La presente invención también prevé la cuaternización de cualquier grupo básico que contenga nitrógeno de los compuestos divulgados en la presente memoria. Se pueden obtener productos solubles o dispersables en agua o en aceite mediante dicha cuaternización. Las sales de metales alcalinos o alcalinotérreos representativas incluyen sodio, litio, potasio, calcio, magnesio y similares. Las sales farmacéuticamente aceptables adicionales incluyen, cuando sea apropiado, cationes no tóxicos de amonio, amonio cuaternario y amina formados usando contraiones tales como haluro, hidróxido, carboxilato, sulfato, fosfato, nitrato, sulfonato de alquilo inferior y sulfonato de arilo.

Como se ha descrito anteriormente, las composiciones farmacéuticamente aceptables de la presente invención comprenden además un vehículo o un adyuvante farmacéuticamente aceptable que, como se usa en la presente memoria, incluye todos y cada uno de entre disolventes, diluyentes u otro vehículo líquido, adyuvantes de dispersión o suspensión, agentes tensioactivos, agentes isotónicos, agentes espesantes o emulsionantes, conservantes, aglutinantes sólidos, lubricantes y similares, según sea apropiado para la forma de dosificación deseada en particular. "Remington's Pharmaceutical Sciences", Decimosexta edición, E. W. Martin (Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1980) divulga diversos vehículos usados en la formulación de composiciones farmacéuticamente aceptables y técnicas conocidas para la preparación de las mismas. Excepto en la medida en que cualquier medio de vehículo convencional sea incompatible con los compuestos de la invención, tal como por la producción de cualquier efecto biológico no deseado u otra interacción de una manera perjudicial con cualquier otro componente o componentes de la composición farmacéuticamente aceptable, su uso se contempla dentro del alcance de la presente invención. Algunos ejemplos de materiales que pueden servir como vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen, pero sin limitación, intercambiadores de iones, alúmina, estearato de aluminio, lecitina, proteínas del suero tales como albúmina sérica humana, sustancias tampón tales como fosfatos, glicina, ácido sórbico o sorbato de potasio, mezclas de glicéridos parciales de ácidos grasos vegetales saturados, agua, sales o electrolitos tales como sulfato de protamina, hidrógeno fosfato disódico, hidrógeno fosfato de potasio, cloruro sódico, sales de cinc, sílice coloidal, trisilicato de magnesio, polivinilpirrolidona, poliácridatos, ceras, polímeros de bloque de polietileno-polioxiopropileno, lanolina, azúcares tales como lactosa, glucosa y sacarosa; almidones tales como almidón de maíz y almidón de patata; celulosa y sus derivados tales como carboximetilcelulosa sódica, etilcelulosa y acetato de celulosa; tragacanto en polvo; malta; gelatina; talco; excipientes tales como manteca de cacao y ceras de supositorio; aceites tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón; aceite de cártamo; aceite de sésamo; aceite de oliva; aceite de maíz y aceite de soja; glicoles tales como propilenglicol o polietilenglicol; ésteres tales como oleato de etilo y laurato de etilo; agar; agentes de tamponamiento tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; ácido algínico; agua apirógena; solución salina isotónica; solución de Ringer; alcohol etílico y soluciones de tampón fosfato, así como otros lubricantes compatibles no tóxicos tales como laurilsulfato sódico y estearato de magnesio, así como agentes colorantes, agentes de liberación, agentes de recubrimiento, agentes edulcorantes, saborizantes y perfumes, conservantes y antioxidantes también pueden estar presentes en la composición a juicio del formulador.

Usos de compuestos y las composiciones farmacéuticamente aceptables

En otro aspecto más, la presente invención proporciona el uso de una composición que comprende un compuesto de fórmula (I) para tratar o disminuir la gravedad de una afección, enfermedad o trastorno en el que este implicada la mutación del CFTR. En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona el uso de una composición que comprende un compuesto de fórmula (I) para tratar una afección, enfermedad o trastorno en el que esté implicada una deficiencia en la actividad del CFTR.

En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona el uso de un compuesto de la presente invención para tratar para tratar fibrosis quística, asma, EPOC inducida por el humo, bronquitis crónica, rinosinusitis, estreñimiento, pancreatitis, insuficiencia pancreática, infertilidad masculina causada por la ausencia bilateral congénita de los conductos deferentes (CBAVD), enfermedad pulmonar leve, pancreatitis idiopática, aspergilosis broncopulmonar alérgica (ABPA), enfermedad hepática, enfisema hereditario, hemocromatosis hereditaria, deficiencias de la coagulación-fibrinólisis tales como la deficiencia de proteína C, angioedema hereditario de tipo 1, deficiencias en el procesamiento de lípidos tales como la hipercolesterolemia familiar, quilomicronemia de tipo 1, abetalipoproteinemia, enfermedades del almacenamiento lisosomal tales como la enfermedad de células I/pseudo-Hurler, mucopolisacaridosis, Sandhof/Tay-Sachs, Crigler-Najjar de tipo II, poliendocrinopatía/hiperinsulinemia, diabetes mellitus, enanismo de Laron, deficiencia de mieloperoxidasa, hipoparatiroidismo primario, melanoma, glucanosis CDG de tipo 1, hipertiroidismo congénito, osteogénesis imperfecta, hipofibrinogenemia hereditaria, deficiencia de ACT, diabetes insípida (DI), DI neurofiseal, DI nefrogénica, síndrome de Charcot-Marie Tooth, enfermedad de Perlizaeus-Merzbacher, enfermedades neurodegenerativas tales como enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica, parálisis supranuclear progresiva, enfermedad de Pick, varios trastornos neurológicos de poliglutamina tales como Huntington, ataxia espinocerebelar de tipo I, atrofia muscular espinal y

bulbar, atrofia dentato-rubro-pálido-luisiana y distrofia miotónica, así como encefalopatías espongiiformes tales como enfermedad de Creutzfeldt-Jakob hereditaria (debida a un defecto en el procesamiento de la proteína priónica), enfermedad de Fabry, síndrome de Straussler-Scheinker, EPOC, enfermedad del ojo seco o enfermedad de Sjögren.

5 De acuerdo con una realización preferida alternativa, la presente invención proporciona el uso de una composición que comprende un compuesto de la presente invención para tratar la fibrosis quística.

De acuerdo con la invención, una "cantidad eficaz" del compuesto o de la composición farmacéuticamente aceptable es esa cantidad eficaz para tratar o disminuir la gravedad de una o más enfermedades, trastornos o afecciones enumerados anteriormente.

10 Los compuestos y las composiciones, de acuerdo con el procedimiento de la presente invención, se pueden administrar usando cualquier cantidad y cualquier vía de administración eficaz para tratar o disminuir la gravedad de una o más enfermedades, trastornos o afecciones enumerados anteriormente.

15 En ciertas realizaciones, los compuestos y las composiciones de la presente invención son útiles para tratar o disminuir la gravedad de la fibrosis quística en pacientes que presentan una actividad de CFTR residual en la membrana apical de los epitelios respiratorios y no respiratorios. La presencia de la actividad de CFTR residual en la superficie epitelial se puede detectar fácilmente mediante procedimientos conocidos en la técnica, por ejemplo, técnicas electrofisiológicas, bioquímicas o histoquímicas convencionales. Dichos procedimientos identifican la actividad de CFTR mediante técnicas electrofisiológicas *in vivo* o *ex vivo*, la medición de las concentraciones de Cl⁻ en sudor y saliva, o técnicas bioquímicas o histoquímicas *ex vivo* para hacer un seguimiento de la densidad de la superficie celular. Mediante dichos procedimientos, se puede detectar fácilmente la actividad de CFTR en pacientes heterocigóticos u homocigóticos para diversas mutaciones diferentes, incluyendo los pacientes homocigóticos o heterocigóticos para la mutación más común, $\Delta F508$.

25 En otra realización, los compuestos y las composiciones de la presente invención son útiles para el tratamiento o la disminución de la gravedad de la fibrosis quística en pacientes que tienen actividad de CFTR residual inducida o aumentada mediante procedimientos farmacológicos o terapia génica. Dichos procedimientos aumentan la cantidad de CFTR presente en la superficie celular, induciendo así una actividad de CFTR ausente hasta la fecha en un paciente o aumentando el nivel existente de actividad de CFTR residual en un paciente.

30 En una realización, los compuestos y las composiciones de la presente invención son útiles para el tratamiento o la disminución de la gravedad de la fibrosis quística en pacientes en ciertos genotipos que presentan actividad de CFTR residual, por ejemplo, mutaciones de clase III (regulación, y apertura y cierre afectados), mutaciones de clase IV (conductancia afectada) o mutaciones de clase V (síntesis reducida) (Lee R. Choo-Kang, Pamela L., Zeitlin, "Type I, II, III, IV, and V cystic fibrosis Transmembrane Conductance Regulator Defects and Opportunities of Therapy"; *Current Opinion in Pulmonary Medicine* 6:521 - 529, 2000). Otros genotipos de pacientes que presentan actividad de CFTR residual incluyen pacientes homocigóticos para una de estas clases o heterocigóticos con cualquier otra clase de mutaciones, incluyendo mutaciones de clase I, mutaciones de clase II o una mutación que carezca de clasificación.

40 En una realización, los compuestos y las composiciones de la presente invención son útiles para el tratamiento o la disminución de la gravedad de la fibrosis quística en pacientes en ciertos fenotipos clínicos, por ejemplo, un fenotipo clínico de leve a moderado que se relaciona normalmente con la cantidad de actividad de CFTR residual de la membrana apical de los epitelios. Dichos fenotipos incluyen pacientes que presentan insuficiencia pancreática o pacientes diagnosticados de pancreatitis idiopática o ausencia bilateral congénita de los conductos deferentes, o enfermedad pulmonar leve.

45 La cantidad exacta necesaria variará de un sujeto a otro, dependiendo de la especie, edad y estado general del sujeto, de la gravedad de la infección, del agente en particular, de su modo de administración y similares. Los compuestos de la invención se formulan preferentemente en forma de dosificación unitaria por su facilidad de administración y uniformidad de la dosificación. La expresión "forma de dosificación unitaria", como se usa en la presente memoria, se refiere a una unidad físicamente diferenciada de agente apropiado para el paciente que se va a tratar. Sin embargo, se entenderá que el uso diario total de los compuestos y las composiciones de la presente invención lo decidirá el médico dentro del alcance del buen juicio médico. El nivel de dosis eficaz específico para cualquier paciente u organismo particular dependerá de diversos factores, incluyendo el trastorno que se esté tratando y la gravedad del trastorno; la actividad del compuesto específico empleado; la composición específica empleada; la edad, el peso corporal, el estado de salud general, el sexo y la dieta del paciente; el momento de la administración, la vía de administración y la velocidad de excreción del compuesto específico empleado; la duración del tratamiento; los fármacos usados en combinación o coincidiendo con el compuesto específico empleado, y factores similares bien conocidos en la técnica médica. El término "paciente", como se usa en la presente memoria, significa un animal, preferentemente un mamífero, y más preferentemente un ser humano.

55 Las composiciones farmacéuticamente aceptables de la presente invención se pueden administrar a seres humanos y otros animales por vía oral, rectal, parenteral, intracisternal, intravaginal, intraperitoneal, tópica (como mediante polvos, pomadas, gotas o parche), bucal, como un pulverizado oral o nasal, o similar, dependiendo de la gravedad

de la infección que se esté tratando. En ciertas realizaciones, los compuestos de la invención se pueden administrar por vía oral o parenteral a niveles de dosificación de aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 50 mg/kg, y preferentemente de aproximadamente 0,5 mg/kg a aproximadamente 25 mg/kg de peso corporal de sujeto al día, una o más veces al día, para obtener el efecto terapéutico deseado.

5 Las formas de dosificación líquida para una administración oral incluyen, pero sin limitación, emulsiones, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Además de los compuestos activos, las formas de dosificación líquidas pueden contener diluyentes inertes usados comúnmente en la técnica tales como, por ejemplo, agua u otros disolventes, agentes solubilizantes y emulsionantes tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, dimetilformamida, aceites (en particular, aceites de semilla de algodón, cacahuete, maíz, germen, oliva, ricino y sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofurfurílico, polietilenglicoles y ésteres de ácidos grasos de sorbitán, y mezclas de los mismos. Aparte de diluyentes inertes, las composiciones orales también pueden incluir adyuvantes, tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y de suspensión, agentes edulcorantes, saborizantes y perfumes.

15 Se pueden formular preparaciones inyectables, por ejemplo, suspensiones inyectables estériles acuosas u oleaginosas, de acuerdo con la técnica conocida usando agentes dispersantes o humectantes adecuados y agentes de suspensión. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución, suspensión o emulsión inyectable estéril en un diluyente o disolvente no tóxico parenteralmente aceptable, por ejemplo, en forma de una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que se pueden emplear están el agua, solución de Ringer, U.S.P y solución de cloruro sódico isotónica. Además, se emplean convencionalmente aceites no volátiles estériles como disolvente o medio de suspensión. Con este fin, se puede emplear cualquier aceite no volátil suave, incluyendo mono- o diglicéridos sintéticos. Además, en la preparación de inyectables, se usan ácidos grasos tales como ácido oleico.

20 Las formulaciones inyectables pueden esterilizarse, por ejemplo, mediante filtración a través de un filtro de retención de bacterias, o mediante la incorporación de agentes esterilizantes en forma de composiciones sólidas estériles que se pueden disolver o dispersar en agua estéril u otro medio inyectable estéril antes de su uso.

25 Para prolongar el efecto de un compuesto de la presente invención, a menudo es deseable ralentizar la absorción del compuesto de la inyección subcutánea o intramuscular. Esto se puede conseguir mediante el uso de una suspensión líquida de material cristalino o amorfo con escasa solubilidad en agua. La velocidad de absorción del compuesto depende entonces de su velocidad de disolución que, a su vez, puede depender del tamaño del cristal y de la forma cristalina. Como alternativa, la absorción retardada de una forma de compuesto administrada por vía parenteral se logra disolviendo o suspendiendo el compuesto en un vehículo oleoso. Las formas inyectables de liberación prolongada se preparan formando matrices microencapsuladas del compuesto en polímeros biodegradables tales como polilactida-poliglicolida. Dependiendo de la proporción del compuesto respecto al polímero y de la naturaleza del polímero empleado en particular, es posible controlar la velocidad de liberación del compuesto. Los ejemplos de otros polímeros biodegradables incluyen poli(ortoésteres) y poli(anhídridos). También se preparan formulaciones inyectables de liberación prolongada mediante el atrapamiento del compuesto en liposomas o microemulsiones que sean compatibles con los tejidos corporales.

30 Las composiciones para una administración rectal o vaginal son preferentemente supositorios que se pueden preparar mezclando los compuestos de la presente invención con excipientes o vehículos adecuados no irritantes tales como manteca de cacao, polietilenglicol o una cera de supositorio, que sean sólidos a temperatura ambiente, pero líquidos a la temperatura corporal y que, por lo tanto, se fundan en el recto o la cavidad vaginal, liberando el compuesto activo.

35 Las formas de dosificación sólidas para una administración oral incluyen cápsulas, comprimidos, píldoras, polvos y gránulos. En dichas formas de dosificación sólidas, el compuesto activo se mezcla con al menos un excipiente o vehículo inerte farmacéuticamente aceptable, tal como citrato sódico o fosfato dicálcico y/o a) cargas o diluyentes tales como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y ácido silícico; b) aglutinantes tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa y goma arábiga; c) humectantes tales como glicerol; d) agentes disgregantes tales como agar-agar, carbonato cálcico, almidón de patata o tapioca, ácido alginico, ciertos silicatos y carbonato sódico; e) agentes retardantes de la disolución tales como parafina; f) aceleradores de la absorción tales como compuestos de amonio cuaternario; g) agentes humectantes tales como, por ejemplo, alcohol cetílico y monoestearato de glicerilo; h) absorbentes tales como caolín y arcilla de bentonita; y i) lubricantes tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, laurilsulfato sódico y mezclas de los mismos. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, la forma de dosificación también puede comprender agentes de tamponamiento.

40 También se pueden emplear como cargas composiciones sólidas de un tipo similar en cápsulas de gelatina rellenas duras y blandas, usando excipientes tales como lactosa o azúcares de la leche, así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares. Las formas de dosificación sólidas de comprimidos, grageas, cápsulas, píldoras y gránulos se pueden preparar con recubrimientos y cubiertas tales como recubrimientos entéricos y otros recubrimientos bien conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica. Pueden contener opcionalmente

agentes opacificantes, y también pueden ser de una composición que libere el/los principio/s activo/s solamente, o preferentemente, en una parte determinada del tracto intestinal, opcionalmente de una forma retardada. Los ejemplos de composiciones de embebimiento que se pueden usar incluyen sustancias poliméricas y ceras. También se pueden emplear composiciones sólidas de un tipo similar como cargas en cápsulas de gelatina rellenas duras y blandas, usando excipientes tales como lactosa o azúcares de la leche, así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares.

Los compuestos activos también pueden estar en forma microencapsulada con uno o más excipientes como se ha indicado anteriormente. Las formas de dosificación sólidas de comprimidos, grageas, cápsulas, píldoras y gránulos se pueden preparar con recubrimientos y cubiertas tales como recubrimientos entéricos, recubrimientos de liberación controlada y otros recubrimientos bien conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica. En dichas formas de dosificación sólidas, el compuesto activo se puede mezclar con al menos un diluyente inerte tal como sacarosa, lactosa o almidón. Dichas formas de dosificación también pueden comprender, como es práctica habitual, sustancias adicionales distintas de diluyentes inertes, por ejemplo, lubricantes de fabricación de comprimidos y otros adyuvantes para la fabricación de comprimidos tales como estearato de magnesio y celulosa microcristalina. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, las formas de dosificación también pueden comprender agentes de tamponamiento. Pueden contener opcionalmente agentes opacificantes y también pueden ser de una composición que libere el/los principio/s activo/s solamente, o preferentemente, en una determinada parte del tracto intestinal, opcionalmente de forma retardada. Los ejemplos de composiciones de embebimiento que se pueden usar incluyen sustancias poliméricas y ceras.

Las formas de dosificación para una administración tópica o transdérmica de un compuesto de la presente invención incluyen pomadas, pastas, cremas, lociones, geles, polvos, soluciones, pulverizados, inhaladores o parches. El componente activo se mezcla en condiciones estériles con un vehículo farmacéuticamente aceptable y cualquier conservante o tampón necesario que pueda ser necesario. También se contemplan dentro del alcance de la presente invención las formulaciones oftálmicas, gotas óticas y colirios. Además, la presente invención contempla el uso de parches transdérmicos, que tienen la ventaja adicional de proporcionar una administración controlada de un compuesto al cuerpo. Dichas formas de dosificación se preparan disolviendo o dispensando el compuesto en el medio apropiado. También se pueden usar potenciadores de la absorción para aumentar el flujo del compuesto a través de la piel. La velocidad se puede controlar proporcionando una membrana de control de la velocidad o dispersando el compuesto en una matriz polimérica o gel.

Se puede analizar la actividad de un compuesto utilizado en la presente invención como un modulador del CFTR de acuerdo con procedimientos descritos en general en la técnica y en los ejemplos de la presente invención.

También se apreciará que los compuestos y las composiciones farmacéuticamente aceptables de la presente invención se pueden emplear en terapias de combinación; es decir, los compuestos y las composiciones farmacéuticamente aceptables se pueden administrar al mismo tiempo que, antes de, o después de uno o más agentes terapéuticos o procedimientos médicos deseados distintos. La combinación particular de terapias (agentes terapéuticos o procedimientos) por emplear en un régimen de combinación tendrá en cuenta la compatibilidad de los agentes terapéuticos y/o procedimientos deseados y el efecto terapéutico que se desea conseguir. También se apreciará que las terapias empleadas pueden conseguir un efecto deseado para el mismo trastorno (por ejemplo, un compuesto de la invención se puede administrar al mismo tiempo que otro agente usado para tratar el mismo trastorno), o pueden conseguir efectos diferentes (por ejemplo, control de cualquier efecto adverso). Como se usan en la presente memoria, los agentes terapéuticos adicionales que se administran normalmente para tratar o prevenir una enfermedad o afección en particular se conocen como "apropiados para la enfermedad o afección que se está tratando".

En una realización, el agente adicional se selecciona de entre un agente mucolítico, un broncodilatador, un agente antibiótico o antiinfectivo, un agente antiinflamatorio, un modulador de CFTR distinto de un compuesto de la presente invención o un agente nutricional. En otra realización más, el agente adicional es un modulador de CFTR distinto de un compuesto de la presente invención.

La cantidad de agente terapéutico adicional presente en las composiciones de la presente invención no será superior a la cantidad que se administraría normalmente en una composición que comprende ese agente terapéutico como único agente activo. Preferentemente, la cantidad de agente terapéutico adicional en las composiciones divulgadas actualmente variará del aproximadamente 50 % al 100 % de la cantidad normalmente presente en una composición que comprende ese agente como único agente terapéuticamente activo.

Los compuestos de la presente invención o composiciones farmacéuticamente aceptables de los mismos también se pueden incorporar en composiciones para el recubrimiento de un dispositivo médico implantable tal como prótesis, válvulas artificiales, injertos vasculares, endoprótesis vasculares y catéteres. Por consiguiente, la presente invención, en otro aspecto, incluye una composición para el recubrimiento de un dispositivo implantable que comprende un compuesto de la presente invención, como se ha descrito en general anteriormente, y en clases y subclases en la presente memoria, y un vehículo adecuado para recubrir dicho dispositivo implantable. En otro aspecto más, la presente invención incluye un dispositivo implantable recubierto con una composición que comprende un compuesto de la presente invención, como se ha descrito en general anteriormente, y en clases y subclases en la presente

memoria, y un vehículo adecuado para recubrir dicho dispositivo implantable. En las patentes de EE.UU. N° 6.099.562; 5.886.026; y 5.304.121, se describen recubrimientos adecuados y la preparación general de dispositivos implantables recubiertos. Los recubrimientos son normalmente materiales poliméricos biocompatibles tales como un polímero de hidrogel, polimetildisiloxano, policaprolactona, polietilenglicol, ácido poliláctico, acetato de etilenvinilo y mezclas de los mismos. Los recubrimientos pueden estar opcionalmente recubiertos además por una capa superior adecuada de fluorosilicona, polisacáridos, polietilenglicol, fosfolípidos o combinaciones de los mismos para conferir características de liberación controlada en la composición.

Otro aspecto de la invención se refiere a la modulación de la actividad de CFTR en una muestra biológica (por ejemplo, *in vitro*), comprendiendo dicho procedimiento poner en contacto dicha muestra biológica con un compuesto de Fórmula I o una composición que comprenda dicho compuesto. La expresión "muestra biológica", como se usa en la presente memoria, incluye, sin limitación, cultivos celulares o extractos de los mismos; material biopsiado obtenido de un mamífero o extractos del mismo; y sangre, saliva, orina, heces, semen, lagrimas y otros fluidos corporales o extractos de los mismos.

La modulación de la actividad de CFTR en una muestra biológica es útil para varios fines que son conocidos para el experto en la materia. Los ejemplos de dichos fines incluyen, pero sin limitación, el estudio del CFTR en los fenómenos biológicos y patológicos; y la evaluación comparativa de nuevos moduladores de CFTR.

En otra realización más, se proporciona un procedimiento de modulación de la actividad de un canal de aniones *in vivo*, que comprende la etapa de poner en contacto dicho canal con un compuesto de fórmula (I). En realizaciones preferidas, el canal de aniones es un canal de cloruro o un canal de bicarbonato. En otras realizaciones preferidas, el canal de aniones es un canal de cloruro.

De acuerdo con una realización alternativa, la presente invención proporciona un procedimiento para aumentar el número de CFTR funcionales en una membrana de una célula, que comprende la etapa de poner en contacto dicha célula *in vitro* con un compuesto de Fórmula (I).

De acuerdo con otra realización preferida, la actividad del CFTR se mide midiendo el potencial de voltaje transmembrana. Los medios para medir el potencial de voltaje a través de una membrana en la muestra biológica pueden emplear cualquiera de los procedimientos conocidos en la técnica, tales como un ensayo óptico del potencial de membrana u otros procedimientos electrofisiológicos.

El ensayo óptico del potencial de membrana usa sensores FRET sensibles al voltaje descritos por Gonzalez y Tsien (Véase, Gonzalez, J. E. y R. Y. Tsien (1995) "Voltage sensing by fluorescence resonance energy transfer in single cells" *Biophys J* 69(4): 1272-80, y Gonzalez, J. E. y R. Y. Tsien (1997) "Improved indicators of cell membrane potential that use fluorescence resonance energy transfer" *Chem Biol* 4(4): 269-77), en combinación con la instrumentación para medir cambios de fluorescencia tales como el lector de sonda de voltaje/iones (VIPR) (Véase, Gonzalez, J. E., K. Oades, *et al.*, (1999) "Cell-based assays and instrumentation for screening ion-channel targets" *Drug Discov Today* 4(9): 431-439).

Estos ensayos sensibles al voltaje están basados en el cambio en la transferencia de energía por resonancia de fluorescencia (FRET) entre el colorante sensible al voltaje soluble en la membrana DiSBAC₂(3) y un fosfolípido fluorescente, CC2-DMPE, que se une a la hoja externa de la membrana plasmática y actúa como donante de FRET. Los cambios en el potencial de membrana (V_m) hacen que el DiSBAC₂(3) cargado negativamente se redistribuya a través de la membrana plasmática y que, por consiguiente, la cantidad de transferencia de energía del CC2-DMPE cambie. Los cambios en la emisión de fluorescencia se pueden controlar usando VIPR™ 11, que es un manipulador de líquidos y detector fluorescente integrado diseñado para realizar exploraciones basadas en células en placas de microtitulación de 96 o 384 pocillos.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un kit para su uso en la medición de la actividad de CFTR, o un fragmento del mismo, en una muestra biológica *in vitro* o *in vivo*, que comprende (i) una composición que comprende un compuesto de Fórmula (I) o cualquiera de las realizaciones anteriores; y (ii) instrucciones para a) poner en contacto la composición con la muestra biológica y b) medir la actividad de dicho CFTR o un fragmento del mismo. En una realización, el kit comprende además instrucciones para a) poner en contacto una composición adicional con la muestra biológica; b) medir la actividad de dicho CFTR, o un fragmento del mismo, en presencia de dicho compuesto adicional, y c) comparar la actividad del CFTR en presencia del compuesto adicional con la densidad del CFTR en presencia de una composición de Fórmula (I). En realizaciones preferidas, el kit se usa para medir la densidad de CFTR.

Para que la invención descrita en la presente memoria se pueda entender de una manera más completa, se exponen los ejemplos siguientes.

Ejemplos

Esquemas de síntesis generales

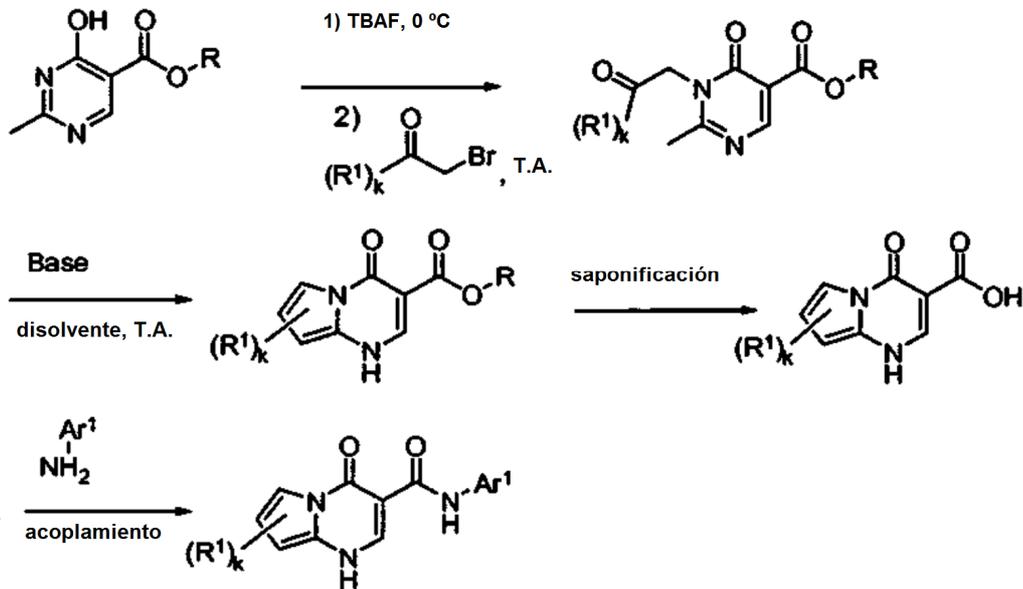
Los compuestos de la presente invención se preparan fácilmente mediante procedimientos conocidos en la técnica. A continuación, se ilustran procedimientos a modo de ejemplo para la preparación de compuestos de la presente invención.

5

Los siguientes esquemas ilustran la síntesis de los compuestos de Fórmula (I) de la presente invención.

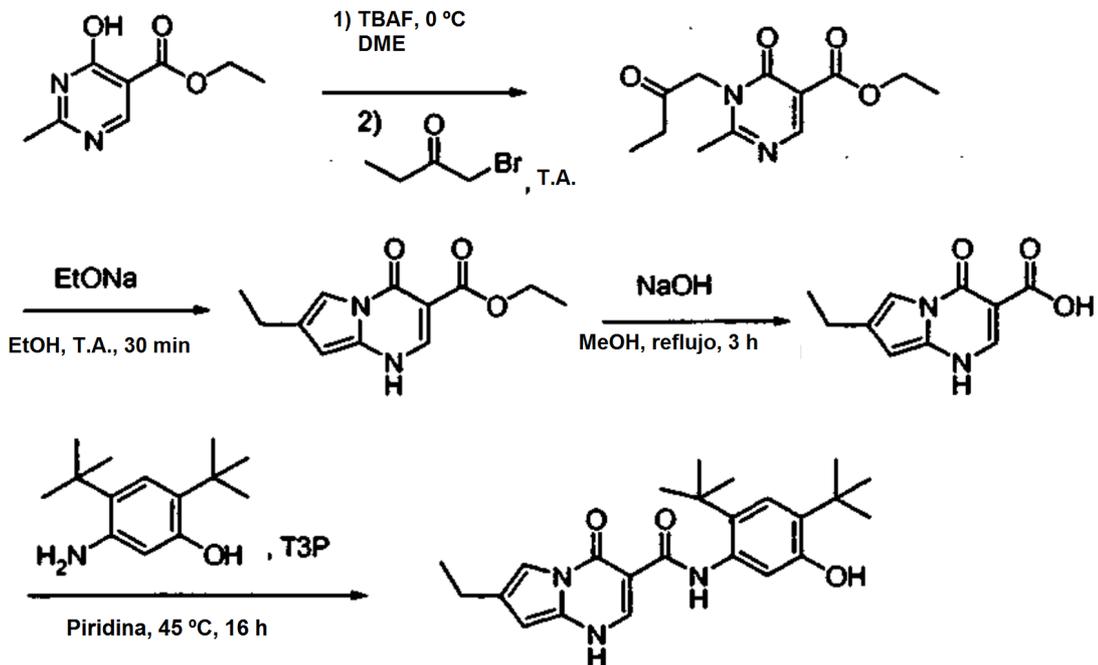
Para que la invención descrita en la presente memoria se pueda entender de una manera más completa, se exponen los siguientes ejemplos. Se debería entender que estos ejemplos son únicamente ilustrativos y no pretenden limitar la presente invención de ningún modo.

Esquema 1



10

Ejemplo 1: Preparación de *N*-(2,4-di-*terc*-butil-5-hidroxifenil)-7-etil-4-oxo-1,4-dihidropirrolo[1,2-*a*]pirimidin-3-carboxamida (Compuesto 14, Tabla 1)



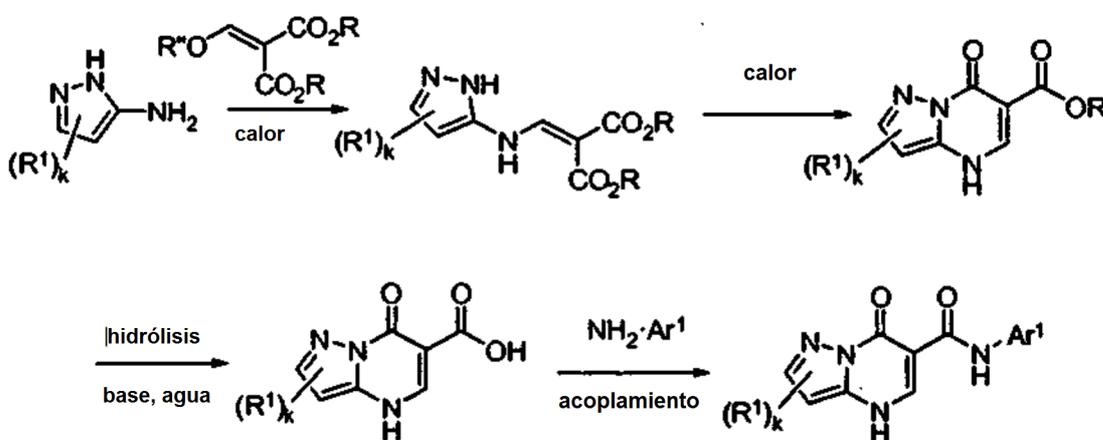
Se suspendió 4-hidroxi-2-metilpirimidin-5-carboxilato de etilo (1,5 g, 8,234 mmol) en DME (48 ml), y se añadió gota a gota TBAF (13,17 ml, solución 1 M en THF, 13,17 mmol) a 0 °C. Se agitó la solución resultante durante 10 minutos y se añadió gota a gota una solución de 1-bromo-2-butanona (1,318 g, 8,728 mmol) en DME (3 ml). Se agitó la reacción a temperatura ambiente durante una noche. Luego se concentró la solución al vacío, y se dividió entre EtOAc y solución acuosa saturada de NH₄Cl. Se separó la capa de EtOAc, se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró al vacío, dando un aceite. Se purificó el material bruto mediante cromatografía ultrarrápida, EtOAc al 0-100 %/hexanos, obteniéndose el producto deseado puro, 2-metil-6-oxo-1-(2-oxobutil)-1,6-dihidropirimidin-5-carboxilato de etilo, en forma de un sólido de color blanquecino; 1,73 g (83 %). CL-EM (gradiente de CH₃CN al 10-99 %/TFA al 0,05 % en H₂O/TFA al 0-05 % durante 3 min): M+H *m/z* 252,9, tiempo de retención: 0,76 minutos. RMN de ¹H (400,0 MHz, CDCl₃) δ 8,62 (s, 1H), 4,88 (s, 2H), 4,38 (m, 2H), 2,68 (m, 2H), 2,49 (s, 3H), 1,39 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H) y 1,18 (t, *J* = 7,3 Hz, 3H).

A una solución de etóxido sódico en etanol (1,906 g, 2,196 ml, 5,882 mmol) en una atmósfera de nitrógeno, se añadió etanol (9,2 ml), produciendo una solución de etóxido sódico al 5 % p/p. Se añadió 2-metil-6-oxo-1-(2-oxobutil)-1,6-dihidro-pirimidin-5-carboxilato de etilo (0,74 g, 2,941 mmol) disuelto en etanol (7 ml) gota a gota a la solución de etóxido sódico. Se agitó la mezcla de reacción durante 30 minutos, se retiró el disolvente a presión reducida, y se trató el sólido resultante con HCl 6 M a pH 5. Se recogió el precipitado resultante, 7-etil-4-oxo-1,4-dihidropirrollo[1,2-a]pirimidin-3-carboxilato de etilo, por filtración al vacío en forma de un sólido de color tostado; 0,63 g (92 %). CL-EM (gradiente de CH₃CN al 10-99 %/TFA al 0,05 % en H₂O/TFA al 0,05 % durante 3 min): M+H *m/z* 235,1; tiempo de retención: 0,99 minutos. RMN de ¹H (400,0 MHz, DMSO) δ 12,74 (s a, 1H), 8,37 (s, 1H), 7,17 (t, *J* = 0,9 Hz, 1H), 6,00 (d, *J* = 1,9 Hz, 1H), 4,20 (c, *J* = 7,1 Hz, 2H), 2,57-2,50 (m, 2H), 1,27 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H) y 1,18 (t, *J* = 7,5 Hz, 3H).

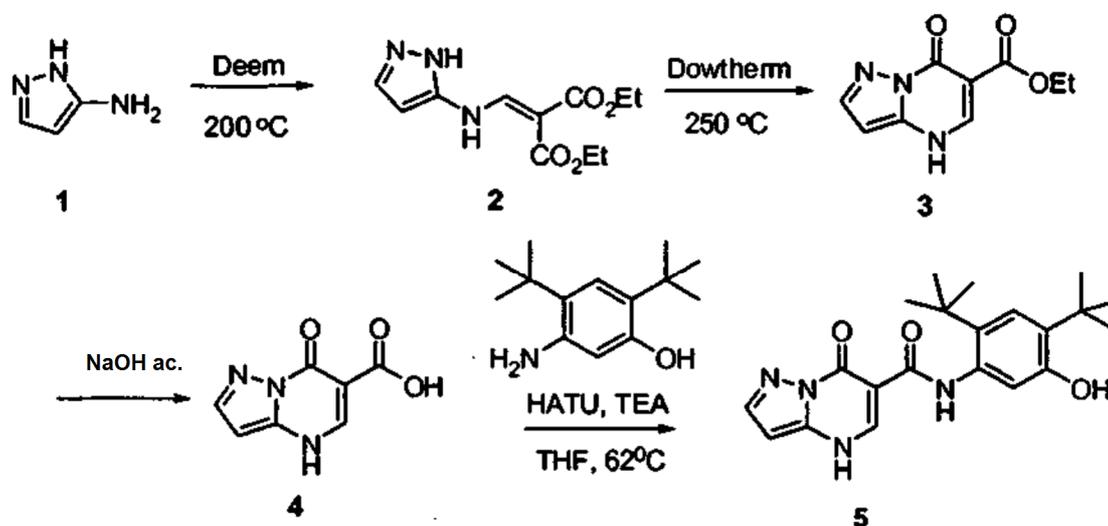
Se disolvió 7-etil-4-oxo-1,4-dihidropirrollo[1,2-a]pirimidin-3-carboxilato de etilo (0,63 g, 2,711 mmol) en una solución de metanol (8 ml)/hidróxido sódico (13,56 ml, 2,0 M, 27,11 mmol) y se calentó a reflujo durante 3 horas. Se dejó enfriar la mezcla hasta la temperatura ambiente y se retiró el metanol al vacío. Se enfrió la solución acuosa hasta 0 °C y se añadió lentamente HCl concentrado hasta que se formó un precipitado (pH 4). Se filtró el precipitado, se lavó con agua y se secó, dando ácido 7-etil-4-oxo-1,4-dihidropirrollo[1,2-a]pirimidin-3-carboxílico; 0,43 g (77 %). CL-EM (gradiente de CH₃CN al 10-99 %/TFA al 0,05 % en H₂O/TFA al 0,05 % durante 3 min): M+H *m/z* 207,1; tiempo de retención: 1,10 minutos. RMN de ¹H (400,0 MHz, DMSO) δ 13,42 (s a, 1H), 12,89 (s a, 1H), 8,51 (s, 1H), 7,29 (t, *J* = 0,8 Hz, 1H), 6,17 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H), 2,61-2,50 (m, 2H) y 1,20 (t, *J* = 7,5 Hz, 3H).

A una solución de ácido 7-etil-4-oxo-1,4-dihidropirrollo[1,2-a]pirimidin-3-carboxílico (32,3 mg, 0,1566 mmol) en 2-metiltetrahidrofurano (400 μl), se añadió anhídrido cíclico de ácido 1-propanofosfónico (249,1 mg, 233,0 μl, 0,3915 mmol) seguido de la adición de piridina (24,77 mg, 25,33 μl, 0,3132 mmol). Se cerró herméticamente la reacción y se calentó hasta 45°C durante 30 minutos, tras lo que se añadió 5-amino-2,4-di-*tert*-butilfenol (41,59 mg, 0,1879 mmol) y se calentó la reacción hasta 45°C durante 16 h. Se retiró el disolvente al vacío y se purificó el residuo mediante HPLC de fase inversa (acetronitrilo al 40-100 % con TFA al 0,035 % en agua con TFA al 0,05 %, dando *N*-(2,4-di-*tert*-butil-5-hidroxifenil)-7-etil-4-oxo-1,4-dihidropirrollo[1,2-a]pirimidin-3-carboxamida. CL-EM (gradiente de CH₃CN al 10-99 %/TFA al 0,05 % en H₂O/TFA al 0,05 % durante 3 min): M+H *m/z* 410,5; tiempo de retención: 2,24 minutos. RMN de ¹H (400,0 MHz, DMSO) δ 13,07 (d, *J* = 6,6 Hz, 1H), 10,72 (s, 1H), 9,20 (s, 1H), 8,55 (d, *J* = 6,8 Hz, 1H), 7,32 (s, 1H), 7,16 (s, 1H), 7,11 (s, 1H), 6,11 (d, *J* = 1,7 Hz, 1H), 2,59 (c, *J* = 7,5 Hz, 2H), 1,36 (s, 18H) y 1,22 (t, *J* = 7,5 Hz, 3H).

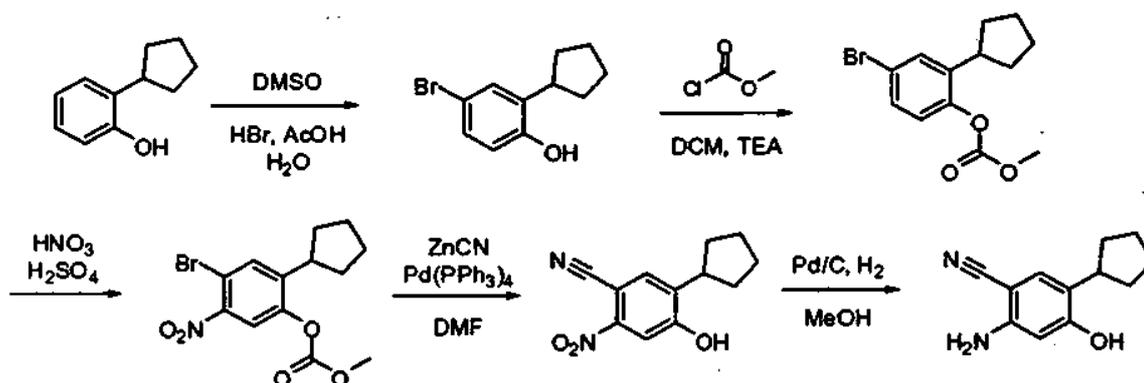
Esquema 2



Ejemplo 2: Preparación de *N*-(2,4-di-*tert*-butil-5-hidroxifenil)-7-oxo-4,7-dihidropirazolo[1,5-*a*]pirimidin-6-carboxamida (Compuesto 5, Tabla 1)



- 5 Se calentó una mezcla de 1*H*-pirazol-5-amina **1** (2 g, 24,1 mmol) y 2-(etoximetileno)malonato de dietilo (10,4 g, 48,2 mmol) hasta 200 °C hasta que el material de partida se consumió por completo. Se dejó enfriar la mezcla hasta la temperatura ambiente y se añadió EtOH (10 ml). Se formó un precipitado, que se retiró por filtración, se lavó con EtOH y se secó al vacío, dando 2-((1*H*-pirazol-5-ilamino)metileno)malonato de dietilo; 4,0 g (66 %). RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 10,95 (d, *J* = 13,5 Hz, 1H), 8,60 (d, *J* = 13,8 Hz, 1H), 7,52 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 6,08 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 4,30 (c, *J* = 7,2 Hz, 2H), 4,22 (c, *J* = 7,2 Hz, 2H), 1,36 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H), 1,31 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H).
- 10 Se calentó una solución del 2-((1*H*-pirazol-5-ilamino)metileno)malonato (4,0 g, 15,8 mmol) en Dowtherm (15 ml) hasta 250 °C durante 2 horas. Se dejó enfriar la mezcla de reacción hasta la temperatura ambiente, se añadió DMF/EtOH (10 ml, 1/1, v/v) a la mezcla y se filtró el precipitado formado, que se lavó con EtOH y se secó al vacío, dando 7-oxo-4,7-dihidropirazolo[1,5-*a*]pirimidin-6-carboxilato de etilo; 1,9 g (58 %). RMN de ¹H (300 MHz, DMSO) δ 13,01 (s a, 1H), 8,58 (s, 1H), 7,91 (d, *J* = 2,1 Hz, 1H), 6,30 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H), 4,22 (c, *J* = 7,2 Hz, 2H), 1,27 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H).
- 15 Se calentó una suspensión de 7-oxo-4,7-dihidropirazolo[1,5-*a*]pirimidin-6-carboxilato de etilo (1,9 g, 9,2 mmol) en NaOH ac. al 10 % (12 ml, 30,0 mmol) a reflujo durante 2 horas. Se dejó enfriar la mezcla de reacción hasta la temperatura ambiente; se acidificó la solución a pH 3-4 con HCl 6 M. Se filtró el precipitado formado, se lavó con agua y se secó, proporcionando ácido 7-oxo-4,7-dihidropirazolo[1,5-*a*]pirimidin-6-carboxílico; 1,6 g (97 %). RMN de ¹H (300 MHz, DMSO) δ 8,53 (s, 1H), 7,94 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H), 6,32 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H). EM (IEN) *m/z*: 177,9 [M-H]⁻.
- 20 A un vial cargado con ácido 7-oxo-4,7-dihidropirazolo[1,5-*a*]pirimidin-6-carboxílico (50 mg, 0,28 mmol) y HATU (117 mg, 0,31 mmol), se añadieron 2 ml de THF seguidos de trietilamina (85 mg, 0,84 mmol). Se dejó en agitación la mezcla de reacción durante 10 minutos a temperatura ambiente, tras lo que se añadió 5-amino-2,4-di-*tert*-butilfenol (62 mg, 0,28 mmol) y se calentó la reacción hasta 65 °C durante 16 h. Después de 16 h, se enfrió la reacción hasta la temperatura ambiente y se retiró el disolvente al vacío. Se purificó el residuo mediante HPLC de fase inversa (CH₃CN al 10 %-99 % (TFA al 0,035 %)/H₂O (TFA al 0,05 %)). CL-EM (gradiente de CH₃CN al 10-99 %/TFA al 0,05 % en H₂O/TFA al 0,05 % durante 3 min), dando *N*-(2,4-di-*tert*-butil-5-hidroxifenil)-7-oxo-4,7-dihidropirazolo[1,5-*a*]pirimidin-6-carboxamida; M+H *m/z* 383,3, tiempo de retención: 1,71 minutos. RMN de ¹H (400,0 MHz, DMSO) δ 13,48 (s, 1H), 10,68 (s, 1H), 9,24 (s, 1H), 8,78 (s, 1H), 8,06 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H), 7,17 (s, 1H), 7,13 (s, 1H), 6,41 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H), 1,36 (d, *J* = 4,5 Hz, 18H).
- 30 **Ejemplo 3:** Síntesis de 2-amino-5-ciclopentil-4-hidroxibenzonitrilo



5 A una solución en agitación de 2-ciclopentil-fenol (7,9 g, 48,7 mmol) en ácido acético (32 ml) y agua (16 ml), se añadió HBr (33 % en AcOH, 50,45 ml, 292,2 mmol) seguido de la adición gota a gota de DMSO (34,8 g, 31,6 ml, 445,0 mmol) durante 10 min. Se inactivó la reacción con solución acuosa saturada de NaHCO₃ y se concentró al vacío para retirar los gases. Se extrajo el residuo en éter (200 ml), se lavó con agua (2 x 100 ml) y salmuera (100 ml), después se secó sobre Na₂SO₄. Se filtró la solución y se concentró al vacío, produciendo un aceite que se purificó mediante cromatografía sobre gel de sílice (acetato de etilo al 0-10 %/hexano), proporcionando 4-bromo-2-ciclopentilfenol (10,5 g, rendimiento del 89 %) en forma de un aceite incoloro. RMN de ¹H (400,0 MHz, DMSO-d₆) δ 9,59 (s, 1H), 7,20 (d, J = 2,5 Hz, 1H), 7,13 (dd, J = 2,5; 8,5 Hz, 1H), 6,73 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 3,21-3,13 (m, 1H), 1,95-1,88 (m, 2H), 1,77-1,69 (m, 2H), 1,65-1,44 (m, 4H).

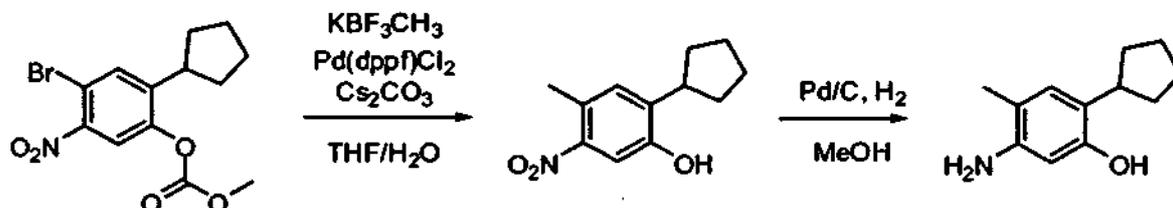
15 Se disolvieron 4-bromo-2-ciclopentilfenol (10,0 g, 41,47 mmol) y DMAP (253 mg, 2,07 mmol) en diclorometano (50 ml) y trietilamina (11,6 ml, 82,94 mmol), se enfrió hasta 0 °C y se trató con cloroformato de metilo (4,8 ml, 62,20 mmol). Se dejó calentar la reacción hasta la temperatura ambiente durante 2 h. Se inactivó la reacción con agua, se separaron las capas y se volvió a extraer la capa acuosa con diclorometano. Se secaron los extractos orgánicos combinados sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron al vacío, produciendo un aceite que se purificó mediante cromatografía sobre gel de sílice (acetato de etilo al 20 %/hexano), produciendo metil-carbonato de 4-bromo-2-ciclopentilfenilo (10,5 g, rendimiento del 85 %). RMN de ¹H (400,0 MHz, DMSO-d₆) δ 7,52 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 7,44 (dd, J = 2,4; 8,6 Hz, 1H), 7,22-7,17 (m, 1H), 3,84 (s, 3H), 3,07-2,98 (m, 1H), 1,95-1,88 (m, 2H), 1,79-1,71 (m, 2H), 1,66-1,46 (m, 4H).

20 Se añadió H₂SO₄ concentrado (115 ml) a metil-carbonato de 4-bromo-2-ciclopentilfenilo (26,09 g, 87,21 mmol) y se agitó la mezcla y se enfrió hasta -10 °C. Luego se añadió KNO₃ (13,22 g, 130,80 mmol) en porciones con una agitación continua. Se agitó la reacción a -10 °C durante 1 h, luego se inactivó con hielo, provocando la precipitación de un sólido de color blanquecino. Se filtró el sólido, se lavó con agua y se secó, proporcionando el producto. Se extrajo la fase acuosa con diclorometano (3 x 10 ml) y se secaron los extractos orgánicos combinados sobre Na₂SO₄. La purificación mediante cromatografía sobre gel de sílice (acetato de etilo al 5-20 %/hexano) proporcionó más metil-carbonato de 4-bromo-2-ciclopentil-5-nitrofenilo (21,72 g combinados, rendimiento del 72 %). RMN de ¹H (400,0 MHz, DMSO-d₆) δ 8,12 (s, 1H), 7,88 (s, 1H), 3,88 (d, J = 5,7 Hz, 3H), 3,13 (dd, J = 9,4; 17,2 Hz, 1H), 1,96-1,92 (m, 2H), 1,80-1,75 (m, 2H), 1,68-1,54 (m, 4H).

30 A un vial de microondas cargado con metil-carbonato de 4-bromo-2-ciclopentil-5-nitrofenilo (102 mg, 0,29 mmol), cianuro de cinc (35 mg, 0,30 mmol) y Pd(PPh₃)₄ (21 mg, 0,02 mmol) en una atmósfera de N₂, se añadió DMF (500 ml). Se calentó la reacción bajo radiación de microondas a 130 °C durante 30 min. Se inactivó la reacción con solución acuosa saturada de Na₂CO₃ y se extrajo con acetato de etilo (3 x 10 ml). Se secaron los extractos orgánicos combinados sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron al vacío, produciendo un aceite de color marrón. La purificación por cromatografía sobre gel de sílice (acetato de etilo al 0-15 %/hexanos) proporcionó 5-ciclopentil-4-hidroxi-2-nitrobenzonitrilo en forma de un sólido de color amarillo claro (40 mg, rendimiento del 58 %). RMN de ¹H (400,0 MHz, DMSO-d₆) δ 11,62 (s, 1H), 7,84 (s, 1H), 7,70 (s, 1H), 3,29-3,24 (m, 1H), 1,99-1,93 (m, 2H), 1,78-1,76 (m, 2H), 1,66-1,57 (m, 4H).

40 Se vació un matraz que contenía Pd al 10 %/C (4 mg), se colocó en atmósfera de N₂ y se suspendió en etanol (2 ml). A esto, se añadió 5-ciclopentil-4-hidroxi-2-nitrobenzonitrilo (42 mg, 0,18 mmol) en forma de una solución en etanol (1,5 ml). Se agitó la reacción en atmósfera de H₂ durante 2 h, luego se filtró y se concentró al vacío, proporcionando 2-amino-5-ciclopentil-4-hidroxibenzonitrilo en forma de un aceite de color amarillo (36 mg, rendimiento cuantitativo). M+H m/z 203,1.

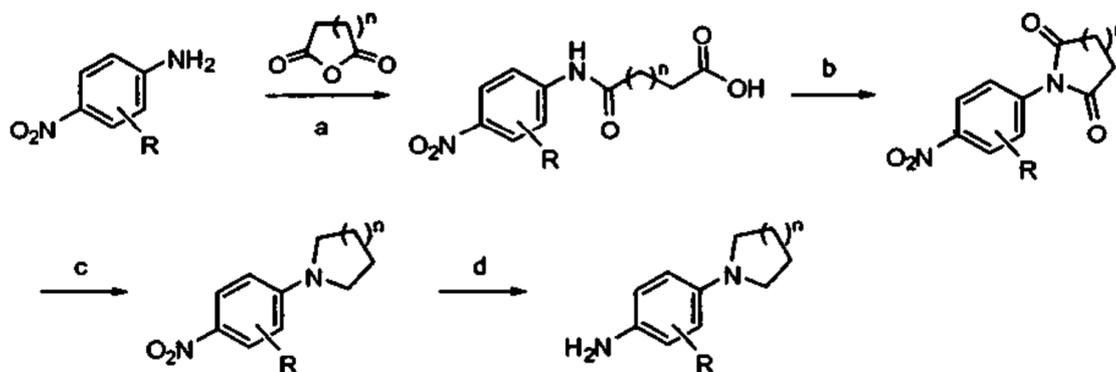
Ejemplo 4: Síntesis de 5-amino-2-ciclopentil-4-metilfenol



5 A un tubo de microondas cargado con metil-carbonato de 4-bromo-2-ciclopentil-5-nitrofenilo (500 mg, 1,45 mmol), Pd(dppf)Cl₂ (96 mg, 0,13 mmol), trifluorometilboro de potasio (177 mg, 1,45 mmol) y carbonato de cesio (1420 mg, 4,36 mmol), se añadió tetrahidrofurano (2,5 ml) y agua (1,25 ml). Se calentó la reacción a 110 °C durante 35 min bajo radiación de microondas. Se repartió la reacción entre acetato de etilo y agua. Se separó la capa orgánica, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró al vacío, produciendo un aceite de color marrón. La purificación mediante cromatografía de gel de sílice (acetato de etilo al 0-6 %/hexanos) proporcionó 2-ciclopentil-4-metil-5-nitrofenol (167 mg, rendimiento del 52 %). RMN de ¹H (400,0 MHz, DMSO-d₆) δ 10,08 (s, 1H), 7,43-7,38 (m, 1H), 7,22 (s, 1H), 3,28-3,21 (m, 1H), 2,43 (s, 3H), 1,96-1,91 (m, 2H), 1,80-1,51 (m, 6H).

15 Se vació un matraz cargado con Pd al 10 %/C (16 mg) y se colocó en una atmósfera de N₂. A esto, se añadió 2-ciclopentil-4-metil-5-nitrofenol (160 mg, 0,72 mmol) en forma de una solución en metanol (3 ml). Se agitó la mezcla de reacción en una atmósfera de H₂ durante 4 h, luego se filtró y se concentró al vacío, proporcionando 5-amino-2-ciclopentil-4-metilfenol en forma de un sólido de color tostado claro (130 mg, rendimiento del 94 %). RMN de ¹H (400,0 MHz, DMSO-d₆) δ 8,47 (s, 1H), 6,60 (s, 1H), 6,08 (s, 1H), 4,44 (s, 2H), 3,02 (dd, J = 2,4; 17,2 Hz, 1H), 1,91 (s, 3H), 1,84-1,77 (m, 2H), 1,71-1,66 (m, 2H), 1,58-1,54 (m, 2H), 1,44-1,39 (m, 2H).

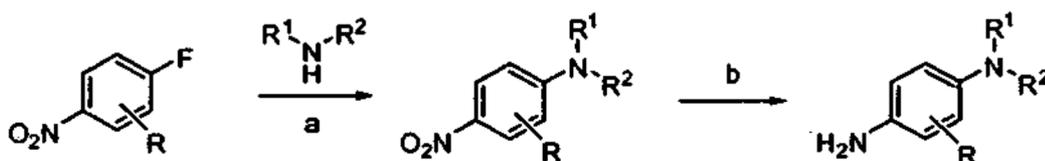
Esquema 4



a) Tolueno, reflujo; b) Ac₂O, NaOAc, calor; c) BH₃, THF, calor; d) Pd/C, H₂, MeOH. N = 1, 2 o 3.

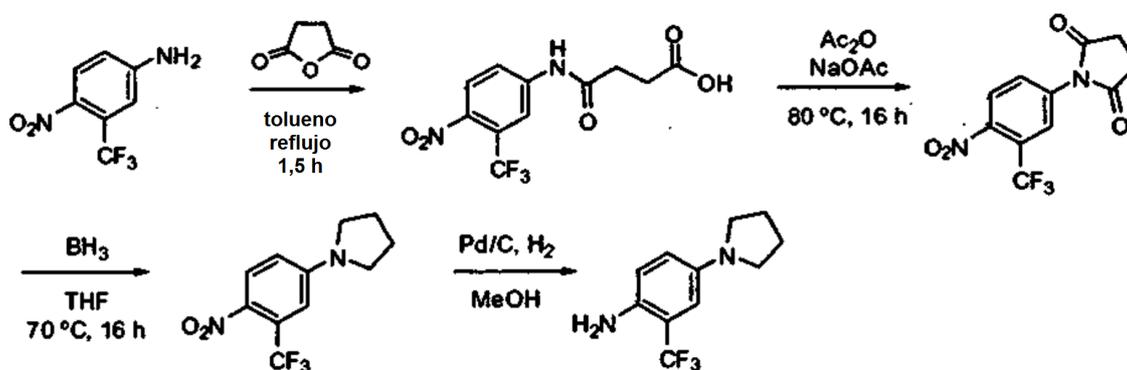
20

Esquema 5



a) CH₃CN, Et₃N, calor o DMSO, Na₂CO₃, calor; b) Pd/C, H₂, EtOH; g) HATU, Et₃N, DMF o anhídrido cíclico de ácido propil-fosfónico (T3P®), piridina, 2-metiltetrahidrofuran.

Ejemplo 5: Síntesis de 4-(pirrolidin-1-il)-2-(trifluorometil)anilina



5 A una solución de 4-nitro-3-(trifluorometil)anilina (2,0 g, 9,7 mmol) en tolueno (30 ml), se añadió tetrahydro-furan-2,5-diona (1,2 g, 11,6 mmol), y se calentó la mezcla a reflujo durante 1,5 h. Se enfrió la mezcla de reacción, se filtró y se lavó el sólido con éter, proporcionando ácido 4-(4-nitro-3-(trifluorometil)fenilamino)-4-oxobutanoico (1,1 g, rendimiento del 39 %). M+H *m/z* 307,3.

10 Se agitó una solución de ácido 4-(4-nitro-3-(trifluorometil)fenilamino)-4-oxobutanoico (1,1 g, 3,6 mmol) y NaOAc (1,6 g, 19,7 mmol) en anhídrido acético (15 ml) durante 16 h a 80 °C. La reacción se enfrió y se filtró. Se diluyó el filtrado con agua y se extrajo con diclorometano. Se lavaron las capas orgánicas combinadas con NaOH 1 N, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron al vacío, proporcionando 1-(4-nitro-3-(trifluorometil)fenil)pirrolidina-2,5-diona (0,4 g, rendimiento del 39 %). M+H *m/z* 289,1.

15 A una solución de 1-(4-nitro-3-(trifluorometil)fenil)pirrolidina-2,5-diona (400 mg, 1,39 mmol) en THF (10 ml), se añadió BH₃ (1,39 ml de 1 M en THF, 1,39 mmol) gota a gota. Luego se sometió la mezcla de reacción a reflujo en atmósfera de N₂ durante 16 h. Se enfrió la reacción, se inactivó con metanol y se concentró al vacío, proporcionando 1-(4-nitro-3-(trifluorometil)fenil)pirrolidina en forma de un sólido de color amarillo (360 mg, rendimiento cuantitativo). M+H *m/z* 261,1.

20 A un matraz cargado con Pd al 10 %/C (50 mg) en atmósfera inerte, se añadió una solución de 1-(4-nitro-3-(trifluorometil)fenil)pirrolidina (350 mg, 1,34 mmol) en etanol. Se agitó la reacción en atmósfera de H₂ durante 16 h, luego se filtró y se volvió a secar, proporcionando 4-(pirrolidin-1-il)-2-(trifluorometil)anilina (300 mg, rendimiento del 97 %). M+H *m/z* 231,3. RMN de ¹H (400,0 MHz, DMSO-d₆) δ 6,84 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 6,72 (dd, *J* = 2,5; 8,8 Hz, 1H), 6,53 (d, *J* = 2,7 Hz, 1H), 4,74 (s, 2H), 3,18 (m, 4H), 1,99 - 1,95 (m, 4H).

En la siguiente Tabla 2, se exponen los datos de caracterización de los compuestos de la presente invención preparados de acuerdo con los ejemplos anteriores.

25

ES 2 422 741 T3

Tabla 2

Nº de Comp.	CL-EM M+1	CL/TR min	RMN
1	397,50	1,74	RMN de ¹ H (400 MHz, DMSO) δ 13,32 (s, 1H), 10,72 (s, 1H), 9,24 (s, 1H), 8,72 (s, 1H), 7,16 (d, <i>J</i> = 8,0 Hz, 2H), 6,25 (s, 1H), 2,35 (s, 3H), 1,37 (s, 9H), 1,36 (s, 9H)
2	350,40	1,48	RMN de ¹ H (400,0 MHz, DMSO) δ 13,47 (s, 1H), 11,10 (s, 1H), 10,75 (s, 1H), 8,79 (s, 1H), 8,07 (d, <i>J</i> = 2 Hz, 1H), 8,06 (d, <i>J</i> = 1,7, 1H), 7,66 (d, <i>J</i> = 8,5 Hz, 1H), 7,02 (dd, <i>J</i> = 1,8; 8,6 Hz, 1H), 6,99 (d, <i>J</i> = 2,3 Hz, 1H), 6,41 (d, <i>J</i> = 2,0 Hz, 1H), 1,39 (s, 9H)
3	433,20	2,10	
4	364,30	1,40	RMN de ¹ H (400 MHz, DMSO) δ 13,31 (s, 1H), 10,96 (s, 1H), 10,80 (s, 1H), 8,75 (s, 1H), 7,58 (d, <i>J</i> = 12,3 Hz, 2H), 7,31 (t, <i>J</i> = 2,7 Hz, 1H), 6,40 (s, 1H), 6,25 (s, 1H), 2,36 (s, 3H), 1,44 (s, 9H)
5	383,30	1,71	
6	350,50	1,35	
7	389,30	1,95	RMN de ¹ H (400,0 MHz, DMSO) δ 13,13 (d, <i>J</i> = 6,8 Hz, 1H), 11,83 (d, <i>J</i> = 2,2 Hz, 1H), 11,36 (s, 1H), 8,57 (d, <i>J</i> = 6,8 Hz, 1H), 8,29 (d, <i>J</i> = 1,5 Hz, 1H), 7,91 (s, 1H), 7,54 (d, <i>J</i> = 8,4 Hz, 1H), 7,31 (s, 1H), 7,20-7,17 (m, 1H), 6,13 (d, <i>J</i> = 1,8 Hz, 1H), 2,60 (d, <i>J</i> = 7,5 Hz, 2H) y 1,22 (t, <i>J</i> = 7,5 Hz, 3H)
8	362,20	1,29	
9	377,50	2,09	RMN de ¹ H (400,0 MHz, DMSO) δ 13,07 (d, <i>J</i> = 6,9 Hz, 1H), 11,22 (s, 1H), 10,72 (s, 1H), 8,55 (d, <i>J</i> = 6,7 Hz, 1H), 8,07 (d, <i>J</i> = 1,8 Hz, 1H), 7,64 (d, <i>J</i> = 8,5 Hz, 1H), 7,31 (s, 1H), 6,99-6,96 (m, 2H), 6,11 (d, <i>J</i> = 1,8 Hz, 1H), 2,63 - 2,57 (c, 2H), 1,39 (s, 9H) y 1,22 (t, <i>J</i> = 7,5 Hz, 3H)
10	308,30	2,17	
11	389,10	1,72	
12	412,20	2,54	
13	392,30	1,48	
14	410,50	2,24	RMN de ¹ H (400,0 MHz, DMSO) δ 13,07 (d, <i>J</i> = 6,6 Hz, 1H), 10,72 (s, 1H), 9,20 (s, 1H), 8,55 (d, <i>J</i> = 6,8 Hz, 1H), 7,32 (s, 1H), 7,16 (s, 1H), 7,11 (s, 1H), 6,11 (d, <i>J</i> = 1,7 Hz, 1H), 2,59 (c, <i>J</i> = 7,5 Hz, 2H), 1,36 (s, 18H) y 1,22 (t, <i>J</i> = 7,5 Hz, 3H)
15	398,20	2,10	RMN de ¹ H (400,0 MHz, DMSO) δ 13,14 (s, 1H), 11,37 (d, <i>J</i> = 2,2 Hz, 1H), 9,38 (s, 1H), 8,54 (s, 1H), 8,02 (d, <i>J</i> = 7,5 Hz, 1H), 7,30 (s, 1H), 6,99 (d, <i>J</i> = 13,8 Hz, 1H), 6,09 (d, <i>J</i> = 1,7 Hz, 1H), 2,21 (s, 3H), 2,12-2,07 (m, 2H), 1,60-1,51 (m, 2H), 1,42-1,36 (m, 6H) y 1,25 (s, 3H)
16	420,30	2,06	RMN de ¹ H (400,0 MHz, DMSO) δ 13,14 (s, 1H), 11,40 (s, 1H), 10,28 (s, 1H), 8,54 (s, 1H), 7,92 (s, 1H), 7,35 (s, 1H), 7,31 (s, 1H), 6,08 (d, <i>J</i> = 1,7 Hz, 1H), 3,20-3,16 (m, 1H), 2,20 (s, 3H), 1,94 (d, <i>J</i> = 5,0 Hz, 2H) y 1,77-1,51 (m, 6H)

(Continuación)

Nº de Comp.	CL-EM M+1	CL/TR min	RMN
17	375,10	1,70	RMN de ¹ H (400,0 MHz, DMSO) δ 13,12 (d, J = 6,4 Hz, 1H), 11,83 (d, J = 2,3 Hz, 1H), 11,35 (s, 1H), 8,56 (d, J = 6,8 Hz, 1H), 8,29 (d, J = 1,6 Hz, 1H), 7,91 (t, J = 1,3 Hz, 1H), 7,55 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,30 (s, 1H), 7,19 (dd, J = 1,8; 8,6 Hz, 1H), 6,09 (d, J = 1,8 Hz, 1H) y 2,22 (s, 3H)
18	366	1,85	RMN de ¹ H (400,0 MHz, DMSO-d ₆) δ 13,07 (s, 1H), 11,02 (s, 1H), 9,08 (s, 1H), 8,53 (s, 1H), 7,88 (s, 1H), 7,30 (s, 1H), 6,94 (s, 1H), 6,07 (d, J = 1,8 Hz, 1H), 3,17-3,12 (m, 1H), 2,23 (s, 3H), 2,20 (s, 3H), 1,92-1,86 (m, 2H), 1,76-1,73 (m, 2H), 1,62-1,48 (m, 4H).
19	377	1,76	

5 Ensayos para la detección y la medición de las propiedades de potenciación de ΔF508-CFTR de los compuestos

Procedimientos ópticos del potencial de membrana para analizar las propiedades de modulación de ΔF508-CFTR de los compuestos

El ensayo utiliza colorantes fluorescentes sensibles al voltaje para medir los cambios producidos en el potencial de membrana usando un lector de placas fluorescente (por ejemplo, FLIPR III, Molecular Devices, Inc.) como lectura del aumento de ΔF508-CFTR funcional en células NIH 3T3. La fuerza impulsora de la respuesta es la creación de un gradiente de iones cloruro en combinación con la activación del canal mediante una sola etapa de adición de líquido tras haberse tratado previamente las células con compuestos y cargarlas posteriormente con un colorante sensible al voltaje.

Identificación de los compuestos potenciadores

Para identificar los potenciadores de ΔF508-CFTR, se desarrolló un formato de ensayo HTS de doble adición. Este ensayo de HTS utiliza colorantes fluorescentes sensibles al voltaje para medir los cambios producidos en el potencial de membrana en un FLIPR III como medición del aumento de la apertura y el cierre (conductancia) de ΔF508-CFTR en células NIH 3T3 de ΔF508-CFTR corregido en cuanto a la temperatura. La fuerza impulsora de la respuesta es el gradiente de iones Cl⁻ en combinación con la activación del canal con forskolina en una sola etapa de adición de líquido usando un lector de placas fluorescente tal como FLIPR III después de haber tratado previamente las células con compuestos potenciadores (o control de vehículo de DMSO) y cargarlas posteriormente con un colorante de redistribución.

Soluciones

Solución del baño N° 1: (en mM) NaCl 160, KCl 4,5, CaCl₂ 2, MgCl₂ 1, HEPES 10, pH 7,4 con NaOH.

Solución del baño libre de cloruro: las sales cloruro de la solución del baño N° 1 se sustituyen con sales de gluconato.

Cultivo celular

Para las mediciones ópticas del potencial de membrana, se usan fibroblastos murinos NIH3T3 que expresan de forma estable ΔF508-CFTR. Las células se mantienen a 37 °C en CO₂ al 5 % y una humedad del 90 % en medio de Eagle modificado por Dulbecco complementado con glutamina 2 mM, suero bovino fetal al 10 %, 1 x AANE, β-ME, 1 x pen/estrep y HEPES 25 mM en matraces de cultivo de 175 cm². Para todos los ensayos ópticos, las células se sembraron a -20.000/pocillo en placas recubiertas con matrigel de 384 pocillos, y se cultivaron durante 2 h a 37 °C antes de cultivarlas a 27 °C durante 24 h para el ensayo del potenciador. Para los ensayos de corrección, las células se cultivan a 27 °C o 37 °C con y sin compuestos durante 16-24 horas.

Ensayos electrofisiológicos para analizar las propiedades de modulación de ΔF508-CFTR de los compuestos

1. Ensayo de cámara de Ussing

Se realizaron experimentos de cámara de Ussing en células epiteliales polarizadas que expresaban ΔF508-CFTR para caracterizar mejor los moduladores del ΔF508-CFTR identificados en los ensayos ópticos. Se aislaron epitelios

de vías respiratorias de FQ y no FQ de tejido de bronquio, se cultivaron según lo descrito anteriormente (Galiotta, L. J. V. Lantero, S., Gazzolo, A., Sacco, O., Romano, L., Rossi, G. A. y Zegarra-Moran, O. (1998) *In Vitro Cell. Dev. Biol.* 34, 478-481) y se sembraron en filtros Snapwell™ Costar® que habían sido recubiertos previamente con medio acondicionado con NIH3T3. Tras cuatro días, se retiraron los medios apicales y se cultivaron las células en una interfase de aire y líquido durante > 14 días antes de su uso. Esto produjo una monocapa de células columnares completamente diferenciadas que eran ciliadas, rasgos que son característicos de los epitelios de las vías respiratorias. Se aisló HBE de no FQ de no fumadores que no tenían ninguna enfermedad pulmonar conocida. Se aislaron HBE de FQ de pacientes homocigóticos para $\Delta F508$ -CFTR.

Se montaron HBE cultivados en insertos de cultivo celular Snapwell™ Coster® en una cámara de Ussing (Physiologic Instruments, Inc., San Diego, CA) y se midieron la resistencia transepitelial y la corriente de circuito corto en presencia de un gradiente de Cl^- de basolateral a apical (I_{sc}) usando un sistema de fijación de voltaje (Departamento de bioingeniería, Universidad de Iowa, IA). En síntesis, se examinaron los HBE en condiciones de registro de fijación de voltaje ($V_{hold} = 0$ mV) a 37 °C. La solución basolateral contenía (en mM) NaCl 145, K_2HPO_4 0,83, KH_2PO_4 3,3, $MgCl_2$ 1,2, $CaCl_2$ 1,2, Glucosa 10, HEPES 10 (el pH se ajustó a 7,35 con NaOH) y la solución apical contenía (in mM) gluconato de sodio 145, $MgCl_2$ 1,2, $CaCl_2$ 1,2, glucosa 10, HEPES 10 (el pH se ajustó a 7,35 con NaOH).

Identificación de los compuestos potenciadores

El protocolo típico utilizaba un gradiente de concentración de Cl^- de membrana basolateral a apical. Para establecer este gradiente, se usó Ringer normal en la membrana basolateral, mientras que el NaCl apical se sustituyó con gluconato sódico equimolar (ajustado a pH 7,4 con NaOH), dando un gran gradiente de concentración de Cl^- a través del epitelio. Se añadieron forskolina (10 μM) y todos los compuestos de ensayo en el lado apical de los insertos de cultivo celular. Se comparó la eficacia de los potenciadores de $\Delta F508$ -CFTR putativos con la del potenciador conocido, la genisteína.

2. Registros de pinzamiento zonal

Se hizo un seguimiento de la corriente de Cl^- total en $\Delta F508$ -CFTR usando una configuración de registro de fijación perforada como se ha descrito previamente (Rae, J., Cooper, K., Gates, P. y Watsky, M. (1991) *J. Neurosci. Methods* 37, 15-26). Los registros de fijación de voltaje se realizaron a 22 °C con un amplificador de pinzamiento zonal Axopatch 200B (Axon Instruments Inc., Foster City, CA). La solución de la pipeta contenía (en mM) *N*-metil-D-glucamina 150 (NMDG)-Cl, $MgCl_2$ 2, $CaCl_2$ 2, EGTA 10, HEPES 10 y 240 $\mu g/ml$ de amfotericina-B (pH ajustado a 7,35 con HCl). El medio extracelular contenía (en mM) NMDG-Cl 150, $MgCl_2$ 2, $CaCl_2$ 2, HEPES 10 (pH ajustado a 7,35 con HCl). La generación de pulsos, la adquisición de datos y el análisis se realizaron usando un PC dotado de un interfaz A/D Digidata 1320 en combinación con Clampex 8 (Axon Instruments Inc.). Para activar $\Delta F508$ -CFTR, se añadieron forskolina 10 μM y genisteína 20 μM al baño y se hizo un seguimiento de la relación entre la corriente y el voltaje cada 30 s.

Identificación de los compuestos potenciadores

También se investigó la capacidad de los potenciadores de $\Delta F508$ -CFTR para aumentar la corriente macroscópica de Cl^- de $\Delta F508$ -CFTR ($I_{\Delta F508}$) en células NIH3T3 que expresaban de manera estable $\Delta F508$ -CFTR usando técnicas de registro de fijación perforada. Los potenciadores identificados de los ensayos ópticos evocaron un aumento dependiente de la dosis de $I_{\Delta F508}$ con una potencia y una eficacia similares a las observadas en los ensayos ópticos. En todas las células examinadas, el potencial de inversión antes y durante la aplicación de los potenciadores fue de aproximadamente -30 mV, que es el E_{Cl} calculado (-28 mV)

Cultivo celular

Para los registros de células enteras, se usan fibroblastos murinos NIH3T3 que expresan de forma estable $\Delta F508$ -CFTR. Las células se mantienen a 37 °C en CO_2 al 5 % y una humedad del 90 % en medio de Eagle modificado por Dulbecco complementado con glutamina 2 mM, suero bovino fetal al 10 %, 1 x AANE, β -ME, 1 x pen/estrep y HEPES 25 mM en matraces de cultivo de 175 cm^2 . Para los registros de las células enteras, se sembraron 2.500-5.000 células sobre cubreobjetos de vidrio recubiertos de poli-L-lisina y se cultivaron durante 24-48 horas a 27 °C antes de usarlas para analizar la actividad de los potenciadores; y se incubaron con o sin el compuesto de corrección a 37 °C para medir la actividad de los correctores.

3. Registros de un solo canal

Se observó la actividad de apertura y cierre de CFTR de tipo natural y $\Delta F508$ -CFTR corregido en cuanto a la temperatura en células NIH3T3 usando registros de fijación de membrana escindida de dentro hacia fuera según lo descrito previamente (Dalemans, W., Barbry, P., Champigny, G., Jallat, S., Dott, K., Dreyer, D., Crystal, R. G., Pavirani, A., Lecocq, J-P. Lazdunski, M. (1991) *Nature* 354, 526-528) usando un amplificador de pinzamiento zonal Axopatch 200B Axon Instruments Inc.). La pipeta contenía (en mM): NMDG 150, ácido aspártico 150, $CaCl_2$ 5, $MgCl_2$ 2 y HEPES 10 (pH ajustado a 7,35 con base Tris). El baño contenía (en mM): NMDG-Cl 150, $MgCl_2$ 2, EGTA 5, TES

10 y base Tris 14 (pH ajustado a 7,35 con HCl). Tras la escisión, se activaron tanto el CFTR de tipo natural como el $\Delta F508$ -CFTR mediante la adición de Mg-ATP 1 mM, 75 nM de la subunidad catalítica de la proteína quinasa dependiente de cAMP (PKA; Promega Corp. Madison, WI) y NaF 10 mM para inhibir las proteínas fosfatasa, lo que evitó la reducción de la corriente. Se mantuvo el potencial de la pipeta a 80 mV. Se analizó la actividad de los canales de las fijaciones de membrana que contenían < 2 canales activos. El número máximo de aperturas simultáneas determinó el número de canales activos durante un experimento. Para determinar la amplitud de la corriente de un solo canal, se filtraron fuera de línea los datos registrados de 120 s de actividad de $\Delta F508$ -CFTR a 100 Hz y luego se usaron para crear histogramas de amplitud con todos los puntos que se ajustaron con funciones multigaussianas usando el programa informático de análisis Bio-Patch (Bio-Logic Comp. Francia). Se determinaron la corriente microscópica total y la probabilidad de apertura (P_o) de 120 s de actividad de los canales. La P_o se determinó usando el programa Bio-Patch o a partir de la relación $P_o = I/i(N)$, en la que I = corriente media; i = amplitud de la corriente de un solo canal; y N = número de canales activos de la fijación.

Cultivo celular

15 Para los registros de pinzamiento zonal de membrana escindida, se usan fibroblastos murinos NIH3T3 que expresan de forma estable $\Delta F508$ -CFTR. Las células se mantienen a 37 °C en CO₂ al 5 % y una humedad del 90 % en medio de Eagle modificado por Dulbecco complementado con glutamina 2 mM, suero bovino fetal al 10 %, 1 x AANE, β -ME, 1 x pen/estrep y HEPES 25 mM en matraces de cultivo de 175 cm². Para los registros de un solo canal, se sembraron 2.500-5.000 células sobre cubreobjetos de vidrio recubiertos de poli-L-lisina y se cultivaron durante 24-48 horas a 27 °C antes de usarlas.

20 Los compuestos de la invención son útiles como moduladores de los transportadores de casetes de unión a ATP. En la Tabla 3, se muestran los ejemplos de las actividades y las eficacias de los compuestos de la invención. La actividad de los compuestos se ilustra con "+++" si resultó ser inferior a 5,0 μ M, "++" si resultó ser de 5 μ M a 20,0 μ M, "+" si resultó ser superior a 20,0 μ M y "-" si no se dispone de datos. La eficacia se ilustra con "+++" si resultó ser superior al 100 %, "++" si resultó ser del 100 % al 25 %, "+" si resultó ser inferior al 25 % y "-" si no se dispone de datos. Cabe señalar que el 100 % de eficacia es la máxima respuesta obtenida con 4-metil-2-(5-fenil-1H-pirazol-3-il)fenol.

Tabla 3

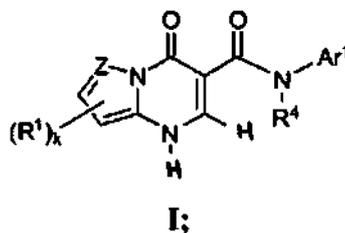
Compuesto N ^o	CE ₅₀ de la actividad (μ m)	% de eficacia
1	+++	++
2	+++	+++
3	+++	++
4	+++	++
5	+++	++
6	+++	++
7	+++	++
8	+++	++
9	+++	++
10	+	++
11	+++	++
12	++	++
13	++	++
14	+++	++
15	+++	++
16	+++	++

(Continuación)

Compuesto N ^o	CE ₅₀ de la actividad (μm)	% de eficacia
17	+++	++
18	+++	++
19	+++	++

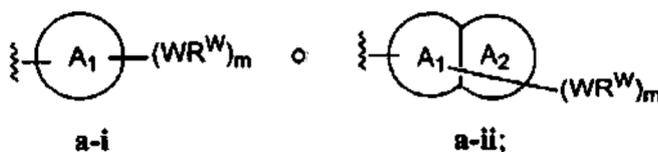
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula I



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que:

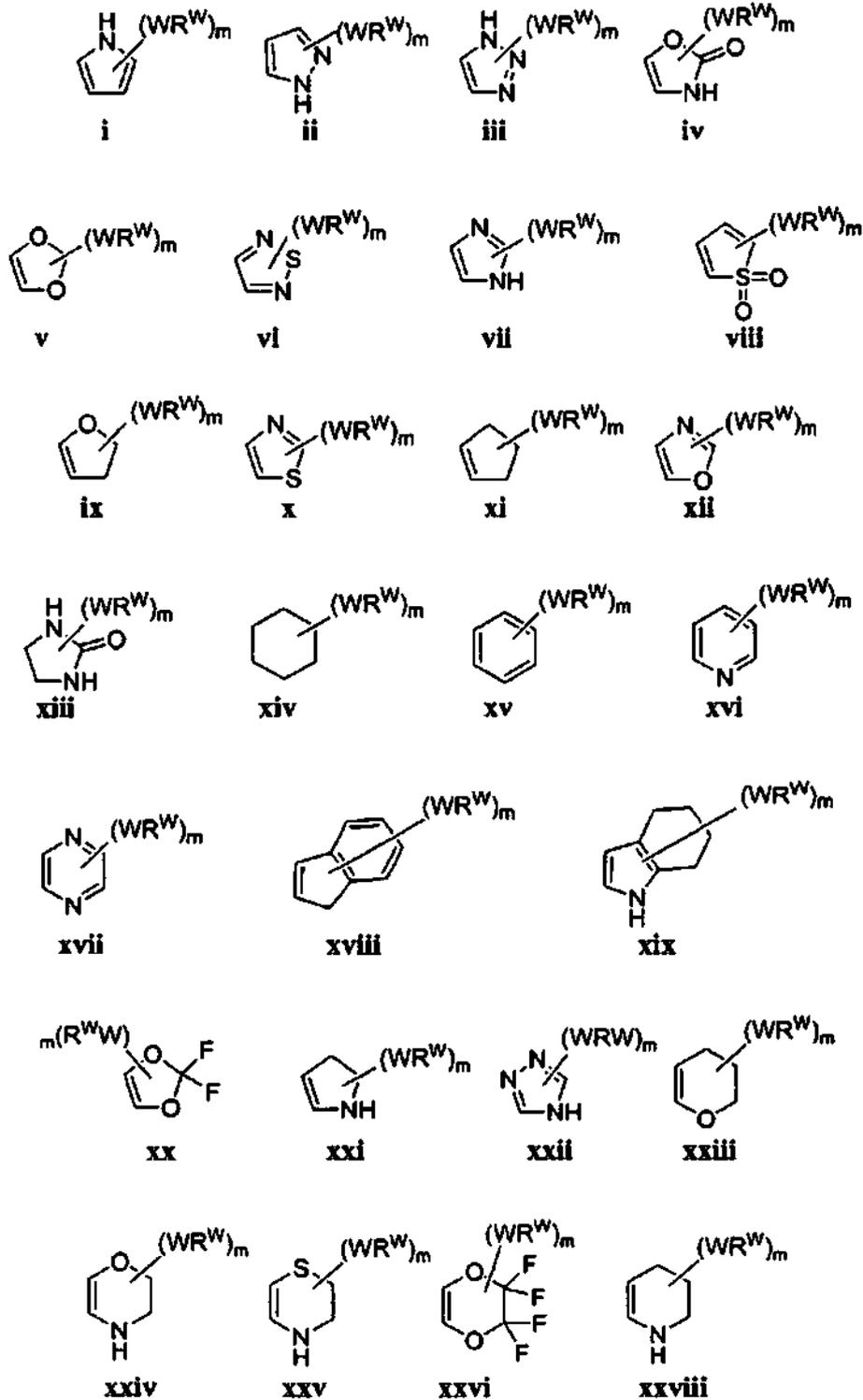
- 5 Ar¹ es un anillo monocíclico aromático de 5-6 miembros que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de entre nitrógeno, oxígeno o azufre, estando dicho anillo opcionalmente condensado con un anillo aromático, parcialmente insaturado o saturado, monocíclico o bicíclico, de 5-12 miembros, conteniendo cada anillo 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de entre nitrógeno, oxígeno, o azufre, en la que Ar¹ tiene m sustituyentes, cada uno independientemente seleccionado de entre -WR^W; W es un enlace o es una cadena de alquilideno C₁-C₆ opcionalmente sustituido, estando hasta dos unidades de metileno de W opcional e independientemente reemplazadas por O, -CO-, -CS-, -COCO-, -CONR', -CONR'NR', -CO₂-, -OCO-, -NR'CO₂-, -O-, -NR'CONR', -C(O)NR', -OCONR', -NR'NR', -NR'NR'CO-, -NR'CO-, -S-, -SO-, -SO₂-, -NR', -SO₂NR', NR'SO₂- o -NR'SO₂NR';
- 10 R^W es independientemente R', halo, ciano, CF₃, CHF₂, OCHF₂, Me, Et, CH(Me)₂, CHMeEt, *n*-propilo, *t*-butilo, OH, OMe, OEt, OPh, O-fluorofenilo, O-difluorofenilo, O-metoxifenilo, O-tolilo, O-bencilo, SMe, SCF₃, SCHF₂, SET, CH₂CN, NH₂, NHMe, N(Me)₂, NHEt, N(Et)₂, C(O)CH₃, C(O)Ph, C(O)NH₂, SPh, SO₂-(amino-piridilo), SO₂NH₂, SO₂Ph, SO₂NHPh, SO₂-N-morfolino, SO₂-N-pirrolidilo, N-pirrolilo, 2-metilpirrolilo, 3-fluoropirrolilo, 3,3-difluoropirrolilo, 3,3-dimetilpirrolilo, 2,5-dimetilpirrolilo, N-morfolino, 1-piperidilo, fenilo, bencilo, (ciclohexilmetilamino)metilo, 4-metil-2,4-dihidro-pirazol-3-ona-2-ilo, benzoimidazol-2-ilo, furan-2-ilo, 4-metil-4H-[1,2,4]triazol-3-ilo, 3-(4'-clorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-5-ilo, NHC(O)Me, NHC(O)Et, NHC(O)Ph o NHSO₂Me;
- 15 Z es -CH-, -CR¹- o N;
- 20 m es 0-5;
- k es 0-1;
- 25 cada R¹ es independientemente X-R^X;
- X es un enlace o es una cadena de alquilideno C₁-C₆ opcionalmente sustituido, estando hasta dos unidades de metileno de X opcional e independientemente reemplazadas por -CO-, -CS-, -COCO-, -CONR', -CONR'NR', -CO₂-, -OCO-, -NR'CO₂-, -O-, -NR'CONR', -OCONR', -NR'NR', -NR'NR'CO-, -NR'CO-, -S-, -SO-, -SO₂-, -NR', -SO₂NR', NR'SO₂- o -NR'SO₂NR';
- 30 R^X es independientemente R', halo, NO₂, CN, CF₃ o OCF₃;
- R⁴ es hidrógeno o un grupo alifático C₁₋₆ opcionalmente sustituido con -X-R^X;
- 35 R' se selecciona independientemente de entre hidrógeno o un grupo opcionalmente sustituido seleccionado de entre un grupo alifático C₁-C₈, un anillo monocíclico saturado, parcialmente insaturado o completamente insaturado de 3-8 miembros que tiene 0-3 heteroátomos independientemente seleccionados de entre nitrógeno, oxígeno o azufre, o un sistema de anillo bicíclico saturado, parcialmente insaturado o completamente insaturado de 8-12 miembros que tiene 0-5 heteroátomos seleccionados independientemente de entre nitrógeno, oxígeno o azufre; o dos apariciones de R' se toman junto con el/los átomo/s con el que/los que están unidos para formar un anillo monocíclico o bicíclico saturado, parcialmente insaturado o completamente insaturado de 3-12 miembros opcionalmente sustituido que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de entre nitrógeno, oxígeno o azufre.
- 40 2. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que Ar¹ se selecciona de entre:

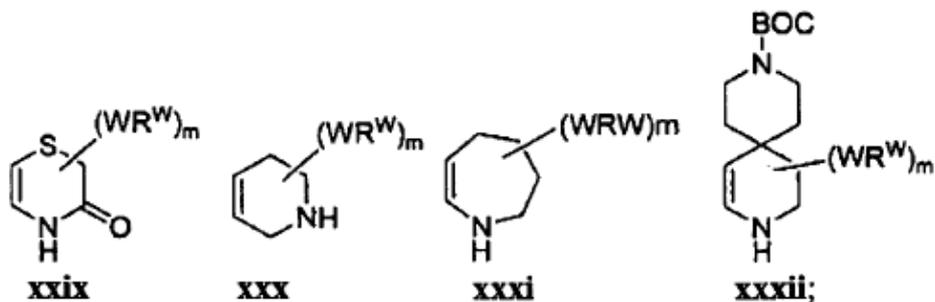


en el que el anillo A₁ es un anillo monocíclico aromático de 5-6 miembros que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de entre nitrógeno, oxígeno o azufre; o

- 45 A₁ y A₂, conjuntamente, son un anillo aromático, bicíclico o tricíclico, de 8-14 miembros, conteniendo cada anillo 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de entre nitrógeno, oxígeno o azufre.

3. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 2, en el que A₁ es un anillo aromático de 6 miembros opcionalmente sustituido que tiene 0-4 heteroátomos, en el que dicho heteroátomo es nitrógeno; o en el que A₁ es un fenilo opcionalmente sustituido; o en el que A₂ es un anillo aromático de 6 miembros opcionalmente sustituido que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de entre nitrógeno, oxígeno o azufre; o en el que A₂ es un anillo aromático de 5 miembros opcionalmente sustituido que tiene 0-3 heteroátomos seleccionados independientemente de entre nitrógeno, oxígeno o azufre; o en el que A₂ es un anillo aromático de 5 miembros que tiene 1-2 átomos de nitrógeno; o en el que A₂ está seleccionado de entre:





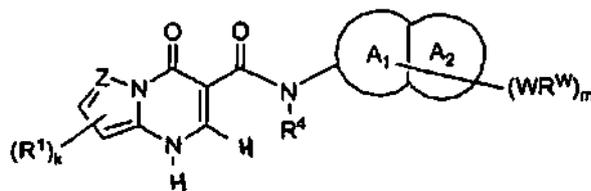
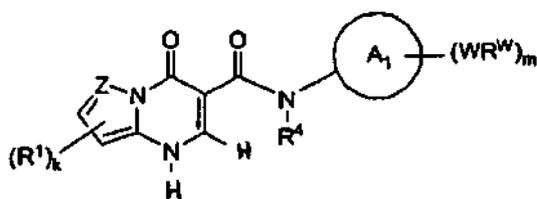
en el que el anillo A₂ está condensado con el anillo A₁ a través de dos átomos adyacentes de los anillos.

4. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que R⁴ es hidrógeno.

5. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que R¹ es hidrógeno; o en el que R¹ es alquilo C₁-C₃; o en el que R¹ es metilo; o en el que R¹ es etilo.

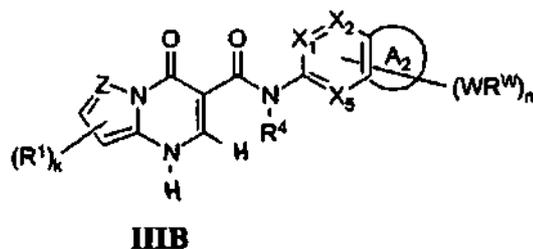
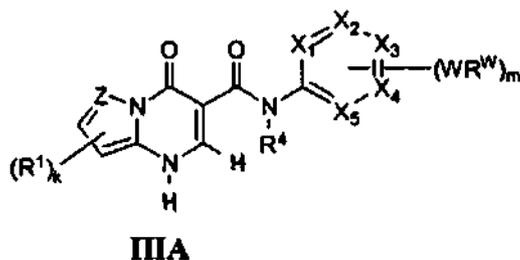
6. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que cada aparición de WR^W es independientemente -alquilo C₁-C₃, *t*-butilo, perhaloalquilo C₁-C₃, -OH, -O(alquilo C₁-C₃), -CF₃, -OCF₃, -SCF₃, -F, -Cl, -Br o -COOR', -COR', -O(CH₂)₂N(R')(R'), -O(CH₂)N(R')(R'), -CON(R')(R'), -(CH₂)₂OR', -(CH₂)OR', anillo heterocíclico de 5-7 miembros opcionalmente sustituido, grupo cicloalifático de 5-7 miembros opcionalmente sustituido, anillo aromático monocíclico o bicíclico opcionalmente sustituido, arilsulfona opcionalmente sustituido, anillo heteroarilo de 5 miembros opcionalmente sustituido, -N(R')(R'), -(CH₂)₂N(R')(R'), -C≡CCH₂N(R')(R') o -(CH₂)N(R')(R').

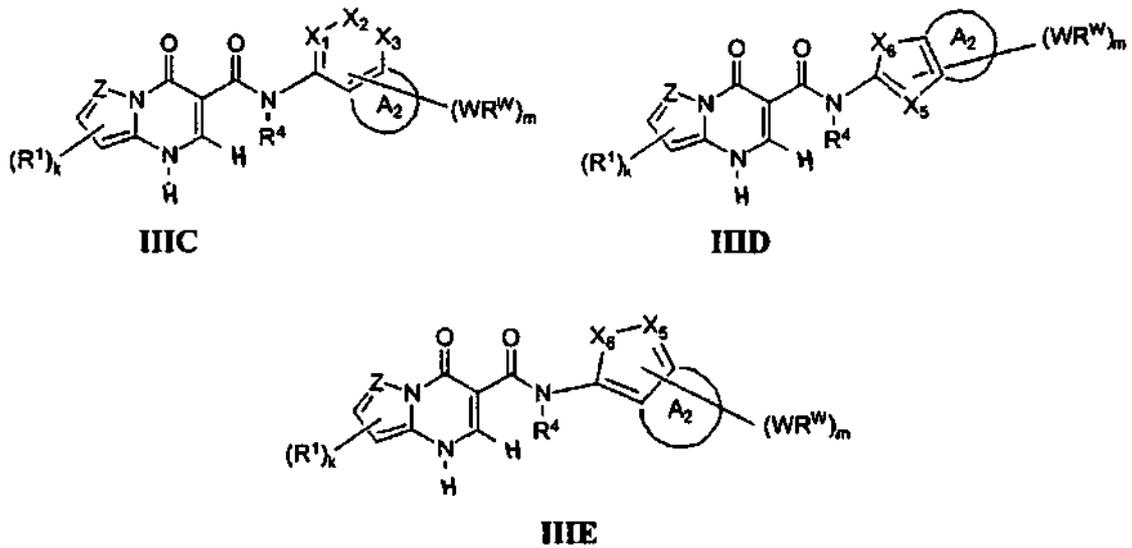
7. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 2, en donde dicho compuesto tiene la fórmula **IIA** o la fórmula **IIB**:



15

o en donde dicho compuesto tiene la fórmula **IIIA**, fórmula **IIIB**, fórmula **IIIC**, fórmula **IIID** o fórmula **IIIE**:



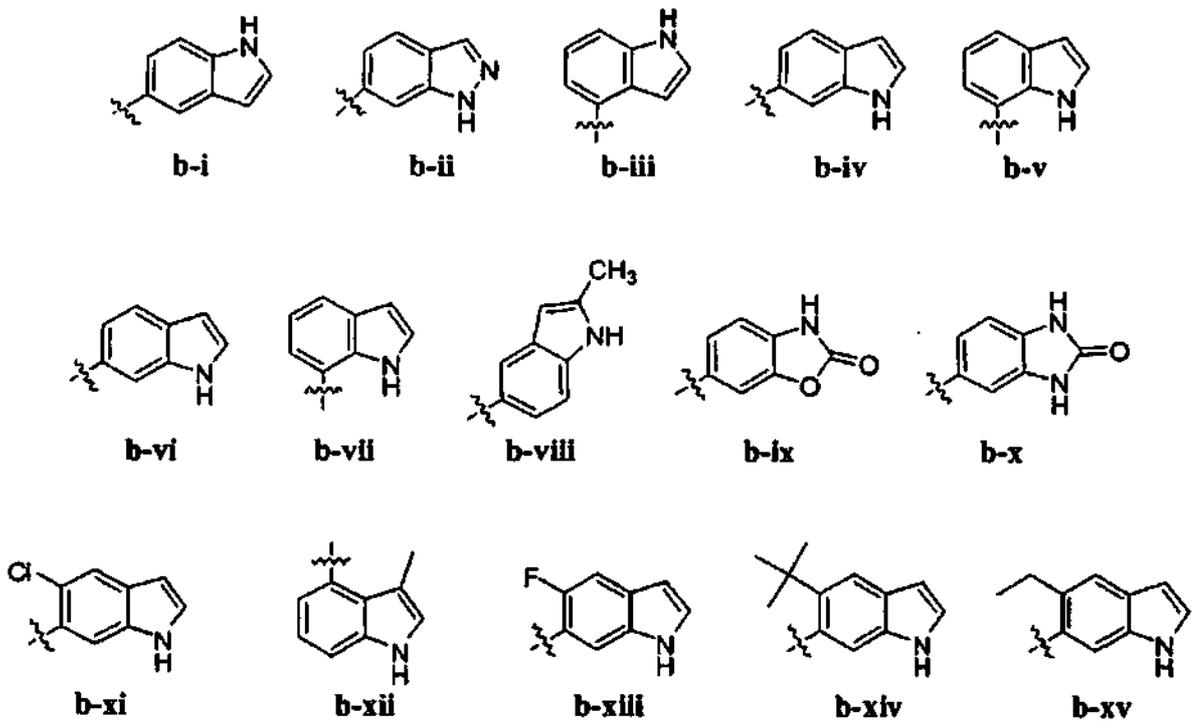


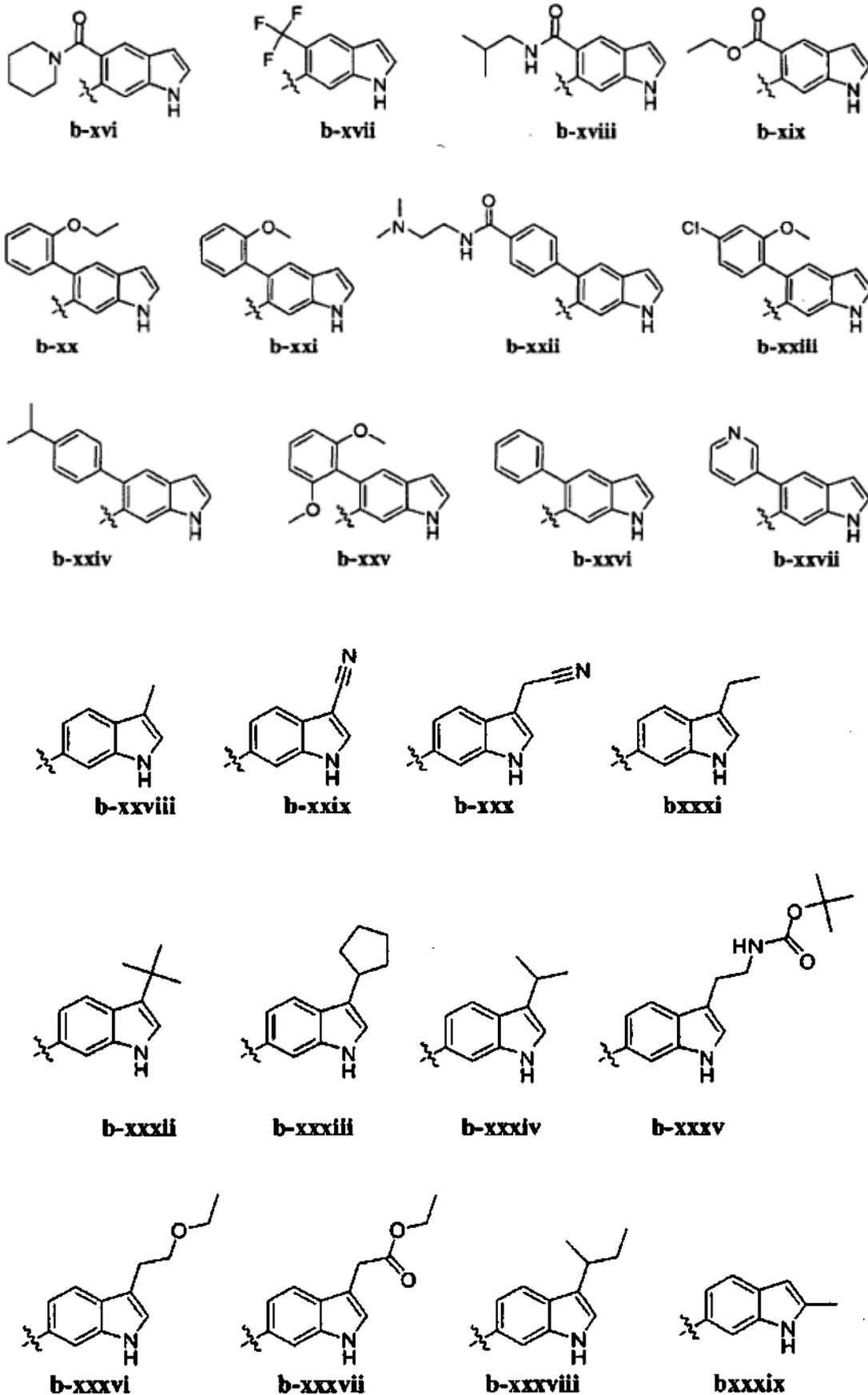
en las que:

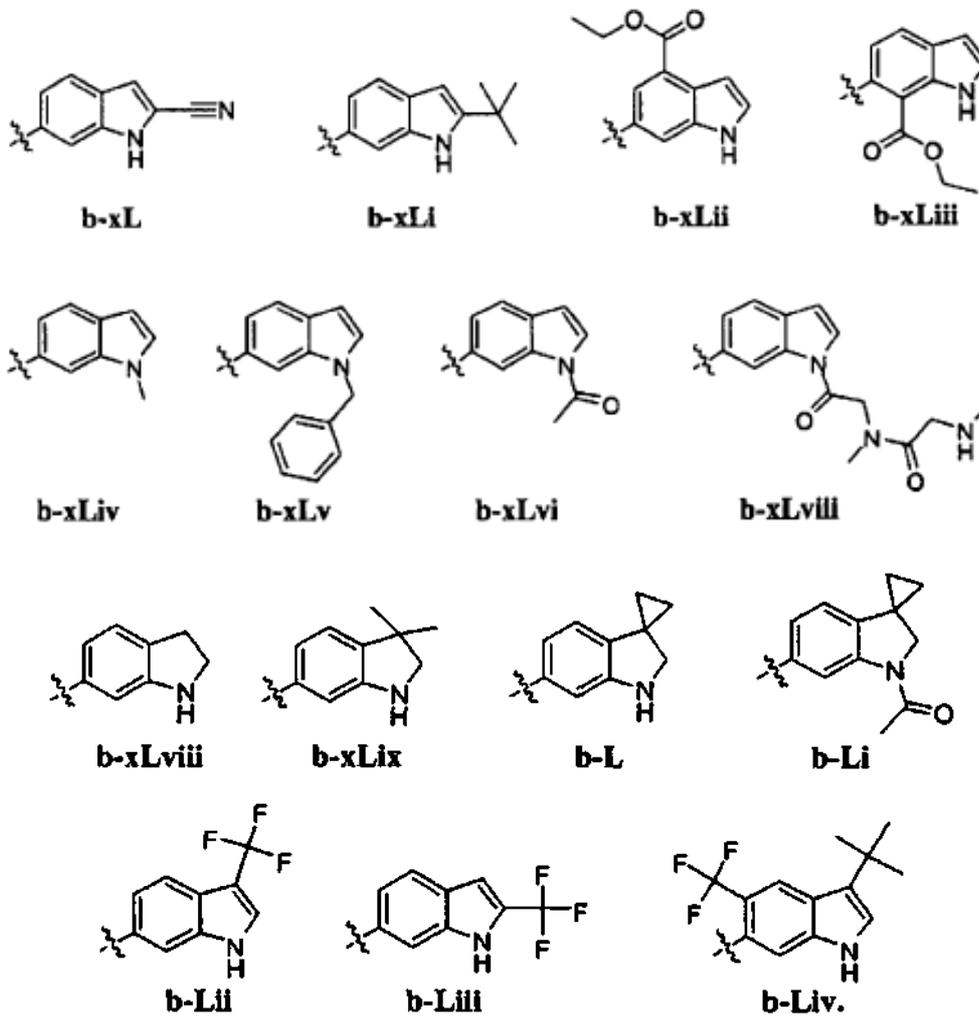
cada X_1 , X_2 , X_3 , X_4 y X_5 están independientemente seleccionados de entre CH o N; X_6 es O, S o NR' .

- 5 **8.** El compuesto de acuerdo con la reivindicación 7, en el que cada X_1 , X_2 , X_3 , X_4 y X_5 de la fórmula **III A** es CH; o en el que X_1 , X_2 , X_3 , X_4 y X_5 tomados conjuntamente en el compuesto de fórmula **III A** son un anillo opcionalmente sustituido seleccionado de entre piridilo, pirazinilo o pirimidinilo; o en el que X_1 , X_2 , X_3 o X_5 , tomados junto con el anillo A_2 en los compuestos de fórmula **III B** o fórmula **III C** son un anillo opcionalmente sustituido seleccionado de entre:

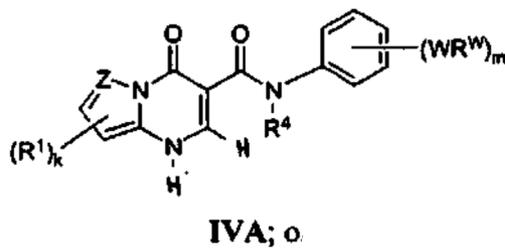
10



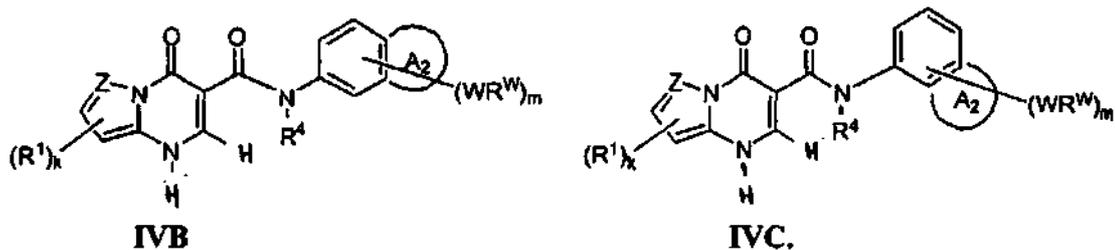




5 9. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 2, en donde dicho compuesto tiene la fórmula IVA.

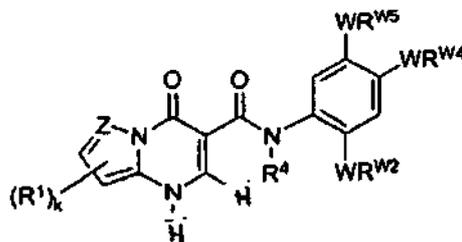


en donde dicho compuesto tiene la fórmula IVB o la fórmula IVC:



10 El compuesto de acuerdo con la reivindicación 9, en el que el anillo A₂ de fórmula IVB o IVC es un anillo saturado, insaturado o aromático opcionalmente sustituido de 5-7 miembros con 0-3 heteroátomos seleccionados de

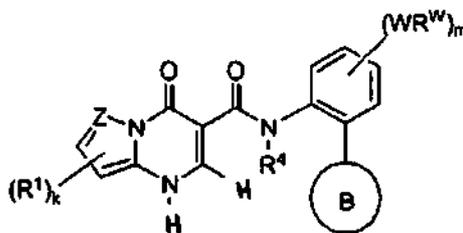
entre O, S o N; o en el que dicho compuesto tiene la fórmula VA-1:



VA-1

5 en la que cada WR^{W2} y WR^{W4} está independientemente seleccionado de entre hidrógeno, CN, CF_3 , OCF_3 , halo, alquilo C₁-C₆ lineal o ramificado, cicloalifático de 3-12 miembros, fenilo, heteroarilo C₅-C₁₀ o heterocíclico C₃-C₇, teniendo dicho heteroarilo o heterocíclico hasta 3 heteroátomos seleccionados de entre O, S o N; en la que dichos WR^{W2} y WR^{W4} están independiente y opcionalmente sustituidos con hasta tres sustituyentes
 10 seleccionados de entre -OR', -CF₃, -OCF₃, SR', S(O)R', SO₂R', -SCF₃, halo, CN, -COOR', -COR', -O(CH₂)₂N(R')(R'), -O(CH₂)N(R')(R'), -CON(R')(R'), -(CH₂)₂OR', -(CH₂)OR', CH₂CN, fenilo o fenoxi opcionalmente sustituidos, -N(R')(R'), -NR'C(O)OR', -NR'C(O)R', -(CH₂)₂N(R')(R') o -(CH₂)N(R')(R'); y
 WR^{W5} está seleccionado de entre hidrógeno, halo, -OH, NH₂, CN, CHF₂, NHR', N(R')₂, -NHC(O)R', -NHC(O)OR', NHSO₂R', -OR', CH₂OH, CH₂N(R')₂, C(O)OR', C(O)N(R')₂, SO₂NHR', SO₂N(R')₂, OSO₂N(R')₂, OSO₂CF₃ o CH₂NHC(O)OR'.

11. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 10, en la que dicho compuesto tiene la fórmula VA-2:



VA-2

15 en la que:

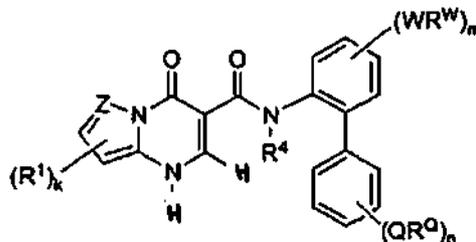
el anillo B es un anillo heterocíclico o heteroarilo, monocíclico o bicíclico de 5-7 miembros opcionalmente sustituido con hasta n apariciones de -Q-R^Q,

Q es W;

R^Q es R^W;

20 m es 0-4; y

n es 0-4; o en la que dicho compuesto tiene la fórmula VA-3:



VA-3

en la que:

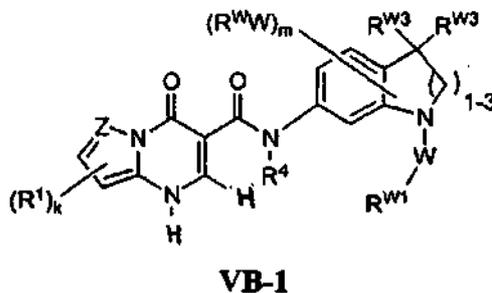
Q es W;

R^Q es R^W;

25 m es 0-4; y

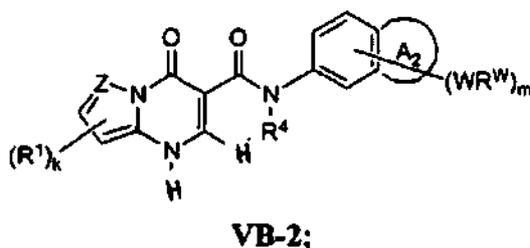
n es 0-4.

12. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 9, en donde dicho compuesto tiene la fórmula **VB-1**:



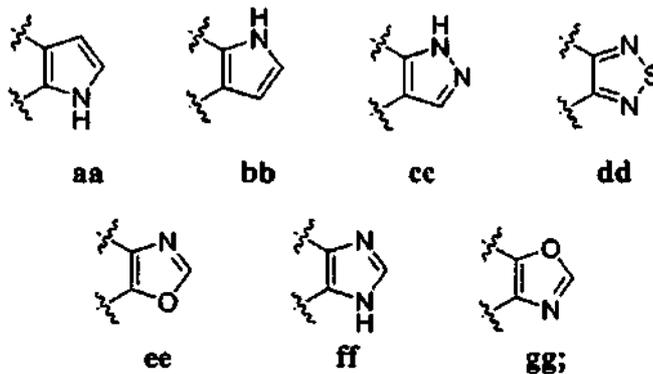
en la que:

- 5 R^{W1} es hidrógeno o alifático en C₁-C₆;
 cada R^{W3} es hidrógeno o alifático en C₁-C₆;
 u, opcionalmente, ambos R^{W3} tomados conjuntamente forman un anillo heterocíclico o cicloalquilo C₃-C₆ que tiene hasta dos heteroátomos seleccionados de entre O, S o NR¹, estando dicho anillo opcionalmente sustituido con hasta dos sustituyentes WR^W ; y
 m es 0-4.
- 10 **13.** El compuesto de acuerdo con la reivindicación 12, en el que WR^{W1} es hidrógeno, alifático en C₁-C₆, C(O)-alifático en C₁-C₆ o C(O)O-alifático en C₁-C₆; o en el que cada R^{W3} es hidrógeno, alquilo C₁-C₄; o ambos R^{W3} tomados conjuntamente forman un anillo cicloalifático C₃-C₆ o un anillo heterocíclico de 5-7 miembros que tiene hasta dos heteroátomos seleccionados de entre O, S o N, estando dicho anillo cicloalifático o heterocíclico opcionalmente sustituido con hasta tres sustituyentes seleccionados de entre WR^{W1} .
- 15 **14.** El compuesto de acuerdo con la reivindicación 9, en donde dicho compuesto tiene la fórmula **VB-2**:



en la que:

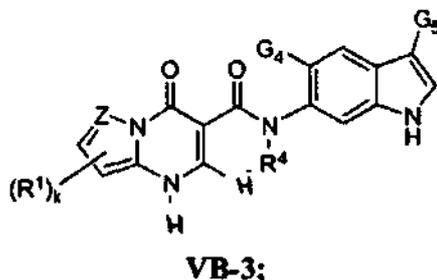
- 20 el anillo A₂ es un fenilo o un anillo heteroarilo de 5-6 miembros, en la que el anillo A₂ y el anillo fenilo condensados entre sí tienen hasta 4 sustituyentes seleccionados independientemente de entre WR^W ; y
 m es 0-4,
- 15.** El compuesto de acuerdo con la reivindicación 14, en el que el anillo A₂ es un anillo de 5 miembros opcionalmente sustituido seleccionado de entre pirrolilo, furanilo, tienilo, pirazolilo, imidazolilo, tiazolilo, oxazolilo, tiadiazolilo, oxadiazolilo o triazolilo; o en el que el anillo A₂ está seleccionado de entre:



25

estando dicho anillo opcionalmente sustituido.

16. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 15, en donde dicho compuesto tiene la fórmula **VB-3**:



en la que:

5 G_4 es hidrógeno, halo, CN, CF_3 , CHF_2 , CH_2F , alifático en C_1-C_6 opcionalmente sustituido, arilalquilo C_1-C_6 o un fenilo; en la que G_4 está opcionalmente sustituido con hasta 4 sustituyentes WR^W , estando hasta dos unidades de metileno de dicho alifático en C_1-C_6 o alquilo C_1-C_6 opcionalmente reemplazados por $-CO-$, $-CONR'-$, $-CO_2-$, $-OCO-$, $-NR'CO_2-$, $-O-$, $-NR'CONR'-$, $-OCONR'-$, $-NR'CO-$, $-S-$, $-NR'-$, $-SO_2NR'-$, $NR'SO_2-$ o $-NR'SO_2NR'-$; G_5 es hidrógeno, CN o un alifático en C_1-C_6 opcionalmente sustituido; en la que dicho sistema de anillo indol anillo está además opcionalmente sustituido con hasta 3 sustituyentes independientemente seleccionados de entre WR^W .

10

17. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 16, en el que G_4 es hidrógeno y G_5 es alifático en C_1-C_6 , en el que dicho alifático está opcionalmente sustituido con alquilo C_1-C_6 , halo, ciano o CF_3 ; y estando hasta dos unidades de metileno de dicho alifático en C_1-C_6 o alquilo C_1-C_6 opcionalmente reemplazadas por $-CO-$, $-CONR'-$, $-CO_2-$, $-OCO-$, $-NR'CO_2-$, $-O-$, $-NR'CONR'-$, $-OCONR'-$, $-NR'CO-$, $-S-$, $-NR'-$, $-SO_2NR'-$, $NR'SO_2-$ o $-NR'SO_2NR'-$; o en el que G_4 es hidrógeno y G_5 es ciano, metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, *sec*-butilo, *t*-butilo, cianometilo, metoxietilo, $CH_2C(O)OMe$, $(CH_2)_2-NHC(O)$ *O-terc*-But, o ciclopentilo; o en el que G_5 es hidrógeno, CN o CF_3 y G_4 es halo, alifático en C_1-C_6 o fenilo, estando dicho alifático o fenilo opcionalmente sustituidos con alquilo C_1-C_6 , halo, ciano o CF_3 , estando hasta dos unidades de metileno de dicho alifático en C_1-C_6 o alquilo C_1-C_6 opcionalmente reemplazados por $-CO-$, $-CONR'-$, $-CO_2-$, $-OCO-$, $-NR'CO_2-$, $-O-$, $-NR'CONR'-$, $-OCONR'-$, $-NR'CO-$, $-S-$, $-NR'-$, $-SO_2NR'-$, $NR'SO_2-$ o $-NR'SO_2NR'-$; o en el que G_5 es hidrógeno, CN o CF_3 y G_4 es halo, etoxicarbonilo, *t*-butilo, 2-metoxifenilo, 2-etoxifenilo, $(4-C(O)NH(CH_2)_2-NMe_2)$ -fenilo, 2-metoxi-4-cloro-fenilo, piridin-3-ilo, 4-isopropilfenilo, 2,6-dimetoxifenilo, *sec*-butilaminocarbonilo, etilo, *t*-butilo o piperidin-1-ilcarbonilo.

15

20

18. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dicho compuesto está seleccionado de entre N-(2,4-di-*terc*-butil-5-hidroxifenil)-2-metil-7-oxo-4,7-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-6-carboxamida, N-(3-*terc*-butil-1*H*-indol-6-il)-7-oxo-4,7-di-hidropirazolo[1,5-a]pirimidin-6-carboxamida, N-(4-(3,3-dimetilpirrolidin-1-il)-2-(trifluorometil)fenil)-7-metil-4-oxo-1,4-dihidropirrol[1,2-a]pirimidin-3-carboxamida, N-(5-*terc*-butil-1*H*-indol-6-il)-2-metil-7-oxo-4,7-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-6-carboxamida, N-(5-*terc*-butil-1*H*-indol-6-il)-7-oxo-4,7-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-6-carboxamida, N-(2,4-di-*terc*-butil-5-hidroxifenil)-7-oxo-4,7-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-6-carboxamida, 7-etil-4-oxo-N-(3-(trifluorometil)-1*H*-indol-6-il)-1,4-dihidropirrol[1,2-a]pirimidin-3-carboxamida, 7-oxo-N-(5-(trifluorometil)-1*H*-indol-6-il)-4,7-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-6-carboxamida, N-(1*H*-indol-6-il)-2-metil-7-oxo-4,7-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-6-carboxamida, N-(3-*terc*-butil-1*H*-indol-6-il)-7-etil-4-oxo-1,4-dihidropirrol[1,2-a]pirimidin-3-carboxamida, 7-etil-4-oxo-N-(5-(trifluorometil)-1*H*-indol-6-il)-1,4-dihidropirrol[1,2-a]pirimidin-3-carboxamida, 7-etil-N-(2-fluoro-5-hidroxi-4-(1-metilciclohexil)fenil)-4-oxo-1,4-dihidropirrol[1,2-a]pirimidin-3-carboxamida, 7-oxo-N-(4-(pirrolidin-1-il)-2-(trifluorometil)fenil)-4,7-di-hidropirazolo[1,5-a]pirimidin-6-carboxamida, N-(2-fluoro-5-hidroxi-4-(1-metilciclohexil)fenil)-7-metil-4-oxo-1,4-dihidropirrol[1,2-a]pirimidin-3-carboxamida, N-(4-ciclopentil-5-hidroxi-2-(trifluorometil)fenil)-7-metil-4-oxo-1,4-dihidropirrol[1,2-a]pirimidin-3-carboxamida, N-(2,4-di-*terc*-butil-5-hidroxifenil)-7-etil-4-oxo-1,4-dihidropirrol[1,2-a]pirimidin-3-carboxamida, 7-metil-4-oxo-N-(3-(trifluorometil)-1*H*-indol-6-il)-1,4-dihidropirrol[1,2-a]pirimidin-3-carboxamida, N-(4-ciclopentil-5-hidroxi-2-metilfenil)-7-metil-4-oxo-1,4-dihidropirrol[1,2-a]pirimidin-3-carboxamida o N-(2-ciano-4-ciclopentil-5-hidroxifenil)-7-metil-4-oxo-1,4-dihidropirrol[1,2-a]pirimidin-3-carboxamida.

25

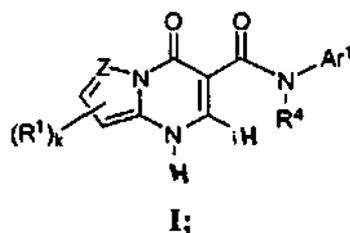
30

35

40 19. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 1 y un vehículo o adyuvante farmacéuticamente aceptables.

20. La composición de acuerdo con la reivindicación 19, en donde dicha composición comprende un agente adicional seleccionado de entre un agente mucolítico, broncodilatador, un antibiótico, un agente antiinfectivo, un agente antiinflamatorio, modulador de CFTR o un agente nutricional.

45 21. Un procedimiento de modulación de la actividad de CFTR *in vitro* que comprende la etapa de poner en contacto dicho CFTR con un compuesto de fórmula I:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que:

Ar¹ es un anillo monocíclico aromático de 5-6 miembros que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de entre nitrógeno, oxígeno o azufre, estando dicho anillo opcionalmente condensado con un anillo aromático, parcialmente insaturado o saturado, monocíclico o bicíclico, de 5-12 miembros, conteniendo cada anillo 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de entre nitrógeno, oxígeno, o azufre, en la que Ar¹ tiene m sustituyentes, cada uno independientemente seleccionado de entre -WR^W;

W es un enlace o es una cadena de alquilideno C₁-C₆ opcionalmente sustituido, estando hasta dos unidades de metileno de W opcional e independientemente reemplazadas por O, -CO-, -CS-, -COCO-, -CONR[']-, -CONR[']NR[']-, -CO₂-, -OCO-, -NR[']CO₂-, -O-, -NR[']CONR[']-, -C(O)NR[']-, -OCONR[']-, -NR[']NR[']-, -NR[']NR[']CO-, -NR[']CO-, -S-, -SO-, -SO₂-, -NR[']-, -SO₂NR[']-, NR[']SO₂- o -NR[']SO₂NR[']-;

R^W es independientemente R['], halo, ciano, CF₃, CHF₂, OCHF₂, Me, Et, CH(Me)₂, CHMeEt, *n*-propilo, *t*-butilo, OH, OMe, OEt, OPh, O-fluorofenilo, O-difluorofenilo, O-metoxifenilo, O-tolilo, O-bencilo, SMe, SCF₃, SCHF₂, SEt, CH₂CN, NH₂, NHMe, N(Me)₂, NHEt, N(Et)₂, C(O)CH₃, C(O)Ph, C(O)NH₂, SPh, SO₂-(amino-piridilo), SO₂NH₂, SO₂Ph, SO₂NHPh, SO₂-N-morfolino, SO₂-N-pirrolidilo, N-pirrolilo, N-morfolino, 1-piperidilo, fenilo, bencilo, (ciclohexil-metilamino)metilo, 4-metil-2,4-dihidro-pirazol-3-ona-2-ilo, benzoimidazol-2-ilo, furan-2-ilo, 4-metil-4*H*-[1,2,4]triazol-3-ilo, 3-(4'-clorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-5-ilo, NHC(O)Me, NHC(O)Et, NHC(O)Ph o NHSO₂Me;

Z es -CH-, -CR¹- o N;

m es 0-5;

k es 0-1;

cada R¹ es independientemente X-R^X;

X es un enlace o es una cadena de alquilideno C₁-C₆ opcionalmente sustituido, estando hasta dos unidades de metileno de X opcional e independientemente reemplazadas por -CO-, -CS-, -COCO-, -CONR[']-, -CONR[']NR[']-, -CO₂-, -OCO-, -NR[']CO₂-, -O-, -NR[']CONR[']-, -OCONR[']-, -NR[']NR[']-, -NR[']NR[']CO-, -NR[']CO-, -S-, -SO-, -SO₂-, -NR[']-, -SO₂NR[']-, NR[']SO₂- o -NR[']SO₂NR[']-;

R^X es independientemente R['], halo, NO₂, CN, CF₃ o OCF₃;

R⁴ es hidrógeno o un grupo alifático C₁₋₆ opcionalmente sustituido con -X-R^X;

R['] se selecciona independientemente de entre hidrógeno o un grupo opcionalmente sustituido seleccionado de entre un grupo alifático C₁-C₈, un anillo monocíclico saturado, parcialmente insaturado o completamente insaturado de 3-8 miembros que tiene 0-3 heteroátomos independientemente seleccionados de entre nitrógeno, oxígeno o azufre, o un sistema de anillo bicíclico saturado, parcialmente insaturado o completamente insaturado de 8-12 miembros que tiene 0-5 heteroátomos seleccionados independientemente de entre nitrógeno, oxígeno o azufre; o dos apariciones de R['] se toman junto con el/los átomo/s con el que/los que están unidos para formar un anillo monocíclico o bicíclico saturado, parcialmente insaturado o completamente insaturado de 3-12 miembros opcionalmente sustituido que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de entre nitrógeno, oxígeno o azufre.

22. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 1 para tratar o disminuir la gravedad de una enfermedad en un paciente, en donde dicha enfermedad está seleccionada de entre fibrosis quística, asma, EPOC inducida por el humo, bronquitis crónica, rinosinusitis, estreñimiento, pancreatitis, insuficiencia pancreática, infertilidad masculina causada por la ausencia bilateral congénita de los conductos deferentes (CBAVD), enfermedad pulmonar leve, pancreatitis idiopática, aspergilosis broncopulmonar alérgica (ABPA), enfermedad hepática, enfisema hereditario, hemocromatosis hereditaria, deficiencias de la coagulación-fibrinólisis tales como deficiencia de proteína C, angioedema hereditario de tipo 1, deficiencias en el procesamiento de lípidos tales como hipercolesterolemia familiar, quilomiconemia de tipo 1, abetalipoproteinemia, enfermedades del almacenamiento lisosomal tales como enfermedad de células I/pseudo-Hurler, mucopolisacaridosis, Sandhof/Tay-Sachs, Crigler-Najjar de tipo II, poliendocrinopatía/hiperinsulinemia, diabetes mellitus, enanismo de Laron, deficiencia de mieloperoxidasa, hipoparatiroidismo primario, melanoma, glucanosis CDG de tipo I, hipertiroidismo congénito, osteogénesis imperfecta, hipofibrinogenemia hereditaria, deficiencia de ACT, diabetes insípida (DI), DI neurofiseal, DI nefrogénica, síndrome de Charcot-Marie Tooth, enfermedad de Perliaeus-Merzbacher, enfermedades neurodegenerativas tales como enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica, parálisis supranuclear progresiva, enfermedad de Pick, varios trastornos neurológicos de poliglutamina tales como Huntington, ataxia espinocerebelar de tipo I, atrofia muscular espinal y bulbar, atrofia dentato-rubro-pálido-luisiana y distrofia miotónica, así como encefalopatías espongiiformes tales como enfermedad de Creutzfeldt-Jakob hereditaria (debida a un defecto en el procesamiento de la proteína priónica), enfermedad de Fabry, enfermedad de Straussler-Scheinker, EPOC, enfermedad del ojo seco o síndrome de Sjögren.

23. Un kit para su uso en la medición de la actividad de CFTR o un fragmento del mismo en una muestra biológica *in vitro* o *in vivo*, que comprende:

- (i) una composición que comprende un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 1;
- (ii) instrucciones para:

- 5 a) poner en contacto la composición con la muestra biológica;
- b) medir la actividad de dicho CFTR o un fragmento del mismo.

24. El kit de la reivindicación 23, que comprende además instrucciones para:

- 10 a) poner en contacto una composición adicional con la muestra biológica;
- b) medir la actividad de dicho CFTR o fragmento del mismo en presencia de dicho compuesto adicional y
- c) comparar la actividad del CFTR en presencia del compuesto adicional con la densidad de CFTR en presencia de una composición de fórmula I.