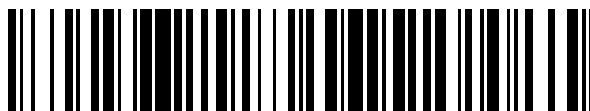


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 435 430**

51 Int. Cl.:

C07D 495/04 (2006.01)

A61K 31/4365 (2006.01)

A61P 17/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.10.2007 E 07825309 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.08.2013 EP 2074128**

54 Título: **Pirazolil tienopiridinas terapéuticas**

30 Prioridad:

16.10.2006 US 851982 P

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

19.12.2013

73 Titular/es:

**THESAN PHARMACEUTICALS, INC. (100.0%)
392 Camino de Estrella
San Clemente, CA 92672 , US**

72 Inventor/es:

**BARRETT, STEPHEN DOUGLAS;
CHEN, HUIFEN;
BOYS, MARK LAURENCE y
KRAMER, JAMES B.**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 435 430 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

Pirazolil tienopiridinas terapéuticas

Antecedentes de la invención

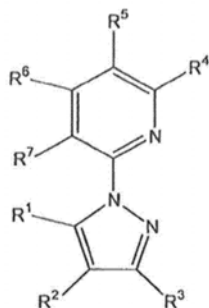
5 Los TGFβ (factores de crecimiento β de transformación) activan cascadas de señalización fibróticas y promotoras de tumor. Tres TGFβ de mamífero, el TGFβ₁, el TGFβ₂ y el TGFβ₃, pueden activar el mecanismo de TGFβ. Los TGFβ se unen y señalizan a través de receptores de la superficie celular (véase Singh et al. (2004) Curr. Opin. Drug Disc. and Dev., 7: 437-445). Un TGFβ se une primeramente a un receptor de tipo II (TβRII), que a continuación se une y fosforila un receptor de tipo I (TβRI) (es decir, una quinasa de tipo receptor de activina (ALK)). Existe una familia de proteínas ALK que incluyen la ALK-5, que es la ALK más específica para TGFβ. La activación de ALK-5 conduce a fosforilación de proteínas intracelulares, lo que da como resultado la regulación de la fibrosis y la tumorigénesis. Por lo tanto, el descubrimiento de inhibidores de ALK-5 es un área activa de investigación para descubrir inhibidores para tratar el cáncer y afecciones que impliquen fibrosis (véase Singh et al. (2004)).

15 Un ejemplo de una afección que implica fibrosis es la formación de cicatrices durante la reparación de heridas. Las cicatrices, que incluyen cicatrices hipertróficas y queloides, típicamente son el resultado de la deposición de colágeno en zonas de herida. Las heridas pueden ser producidas a través de muchos tipos diferentes de mecanismos que incluyen cirugía, heridas accidentales, quemaduras, traumas, etc. Se ha publicado que la aplicación de TGFβ₃, los anticuerpos de TGFβ₁ y TGFβ₂ que inhiben el mecanismo de TGFβ pueden ayudar a reducir la formación de cicatrices (O'Kane y Ferguson, (1997) Int. J. Biochem. Cell Biol., 29: 63-78). Por consiguiente, en la técnica existe una necesidad continua de inhibidores de ALK-5 de molécula pequeña que puedan ser usados para reducir la formación de cicatrices, y para el tratamiento de otras afecciones fibróticas, así como de cáncer.

El documento WO 2006/026305 describe derivados de pirazolil-pirimidina sustituidas, que son útiles para tratar afecciones mediadas por TGFβ.

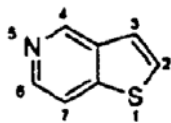
Resumen de la invención

25 En un aspecto, la presente invención proporciona compuestos de fórmula I:

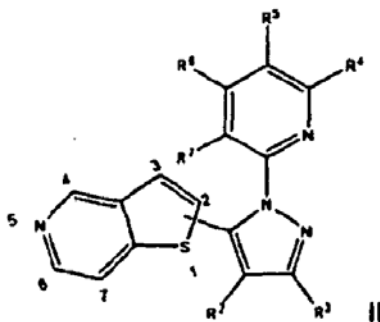


o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, donde: R¹ es un tieno[3,2-c]piridinilo, un tieno[3,2-b]piridinilo, un tieno[2,3-c]piridinilo, o un tieno[2,3-b]piridinilo, cada uno de los cuales puede estar sustituido opcionalmente con entre uno y tres sustituyentes seleccionados cada uno de forma independiente del grupo que consiste en: -alquil-C₁-C₃, -(alquil-C₁-C₃)-S-(alquil-C₁-C₃), -S-alquil-C₁-C₃, -(alquil-C₁-C₃)-O-(alquil-C₁-C₃), -O-alquil-C₁-C₃, -C(O)O-alquil-C₁-C₃, -C(O)O-H, -C(O)nR³⁰R³¹, halo, -CN, -OH, donde R³⁰ y R³¹ se seleccionan de forma independiente del grupo que consiste en: H, -alquil-C₁-C₃-OH, -alquil-C₁-C₃, halo y -O-alquil-C₁-C₃; R² y R³ se seleccionan de forma independiente del grupo que consiste en: hidrógeno, -alquil-C₁-C₃, -(alquil-C₁-C₃)-S-(alquil-C₁-C₃), -S-alquil-C₁-C₃, -(alquil-C₁-C₃)-O-(alquil-C₁-C₃), -O-alquil-C₁-C₃, -C(O)O-alquil-C₁-C₃, -C(O)O-H, -C(O)nR³⁰R³¹, halo, -CN, -OH y un cicloalquilo C₃-C₆, donde R³⁰ y R³¹ se seleccionan de forma independiente del grupo que consiste en: H y -alquil-C₁-C₃; ó R² y R³ pueden ser considerados juntos para formar un heteroarilo de 5 ó 6 miembros, un fenilo, un cicloalquilo C₄-C₈ ó un heterocicloalquilo de 4-6 miembros, donde dicho cicloalquilo C₄-C₈ ó heterocicloalquilo de 4-6 miembros pueden estar sustituidos opcionalmente con entre uno y tres sustituyentes seleccionados de forma independiente entre halo, -OH, oxo y -alquil-C₁-C₃, donde dicho heteroarilo de 5 ó 6 miembros, o fenilo, pueden estar sustituidos opcionalmente con entre uno y tres sustituyentes seleccionados de forma independiente entre halo, -CN, -OH, -O-alquil-C₁-C₃ y -alquil-C₁-C₃; y R⁴, R⁵, R⁶ y R⁷ se seleccionan del grupo que consiste en: H, -OH, cicloalquilo-C₃, -alquil-C₁-C₃, -(alquil-C₁-C₃)-S-(alquil-C₁-C₃), -S-alquil-C₁-C₃, -(alquil-C₁-C₃)-O-(alquil-C₁-C₃), -O-alquil-C₁-C₃, -C(O)O-alquil-C₁-C₃, -C(O)O-H, -C(O)nR³⁰R³¹, halo, -CN y -OH, donde R³⁰ y R³¹ se seleccionan de forma independiente del grupo que consiste en: H, -alquil-C₁-C₃, O-alquil-C₁-C₃ y halo.

En determinadas realizaciones, R^1 es tieno[3,2-c]piridinilo, que puede estar sustituido opcionalmente como se ha especificado en la presente memoria. Las posiciones de una tieno[3,2-c]piridina se numeran como se indica a continuación:

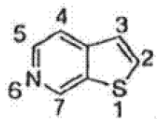


- 5 Un tieno[3,2-c]piridinilo es un radical monovalente de tieno[3,2-c]piridina. Por tanto, en determinadas realizaciones de la presente invención, son compuestos de fórmula II:

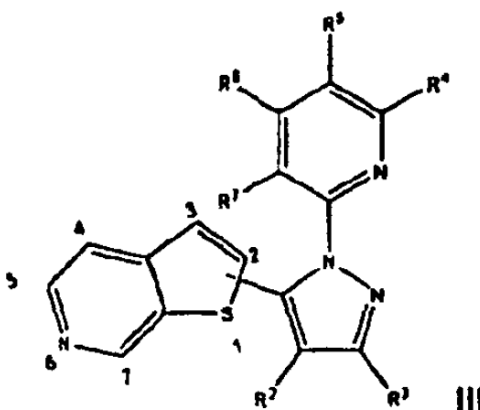


donde R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 y R^7 tienen cualquiera de los valores especificados en la presente memoria, y donde el radical tieno[3,2-c] está unido en cualquiera de las posiciones 2, 3, 4, 6 ó 7.

- 10 En determinadas realizaciones, R^1 es un tieno[2,3-c]piridinilo, que puede estar sustituido opcionalmente como se ha especificado. Las posiciones de una tieno[2,3-c]piridina se numeran como se indica a continuación:



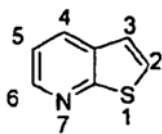
Un tieno[2,3-c]piridinilo es un radical monovalente de tieno[2,3-c]piridina. Por tanto, en determinadas realizaciones de la presente invención, son compuestos de fórmula III:



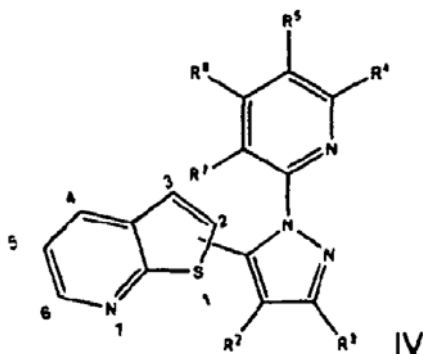
15

donde R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 y R^7 tienen cualquiera de los valores especificados en la presente memoria, y donde el radical tieno[2,3-c] está unido en cualquiera de las posiciones 2, 3, 4, 6 ó 7.

En determinadas realizaciones, R^1 es un tieno[2,3-b]piridinilo, que puede estar sustituido opcionalmente como se ha especificado. Las posiciones de una tieno[2,3-b]piridina se numeran como se indica a continuación:

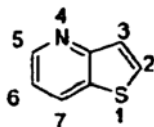


Un tieno[2,3-b]piridinilo es un radical monovalente de tieno[2,3-c]piridina. Por tanto, en determinadas realizaciones de la presente invención, son compuestos de fórmula IV:

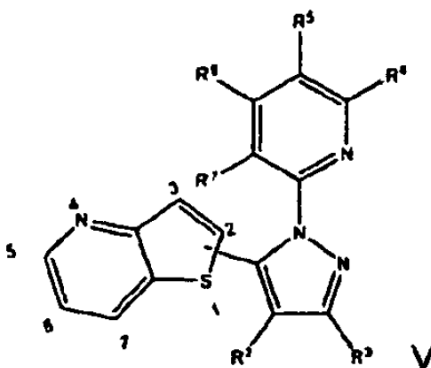


5 donde R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶ y R⁷ tienen cualquiera de los valores especificados en la presente memoria, y donde el radical tieno[2,3-b] está unido en cualquiera de las posiciones 2, 3, 4, 5 ó 6.

En determinadas realizaciones, R¹ es un tieno[3,2-b]piridinilo, que puede estar sustituido opcionalmente como se ha especificado. Las posiciones de una tieno[3,2-b]piridina se numeran como se indica a continuación:



10 Un tieno[3,2-b]piridinilo es un radical monovalente de tieno[3,2-c]piridina. Por tanto, en determinadas realizaciones de la presente invención, son compuestos de fórmula V:



donde R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶ y R⁷ tienen cualquiera de los valores especificados en la presente memoria, y donde el radical tieno[3,2-b] está unido en cualquiera de las posiciones 2, 3, 5, 6 ó 7.

15 En determinadas realizaciones, R¹ es un tieno[3,2-c]piridinilo o un tieno[2,3-c]piridinilo.

En determinadas realizaciones, R¹ es un tieno[3,2-c]piridinilo o un tieno[2,3-c]piridinilo, que puede estar sustituido opcionalmente con entre uno y tres sustituyentes seleccionados cada uno de ellos de forma independiente del grupo que consiste en -alquil-C₁-C₃, -(alquil-C₁-C₃)-S-(alquil-C₁-C₃), -S-alquil-C₁-C₃, -(alquil-C₁-C₃)-O-(alquil-C₁-C₃), -O-alquil-C₁-C₃, -C(O)O-alquil-C₁-C₃, -C(O)O-H, -C(O)nR³⁰R³¹, halo, -CN, -OH, donde R³⁰ y R³¹ se seleccionan de forma independiente del grupo que consiste en: H, -alquil-C₁-C₃-OH, -alquil-C₁-C₃, halo y -O-alquil-C₁-C₃;

20

En determinadas realizaciones, R¹ es un tieno[3,2-c]piridinilo, que puede estar sustituido opcionalmente con entre uno y tres sustituyentes seleccionados cada uno de ellos de forma independiente del grupo que consiste en: -OH, alquilo C₁-C₃, halo y -O-alquil-C₁-C₃.

5 En determinadas realizaciones, R² y R³ se consideran en conjunto para formar un cicloalquilo C₄-C₆, o un heterocicloalquilo de 4-6 miembros, donde dicho cicloalquilo C₄-C₆ o heterocicloalquilo de 4-6 miembros puede estar sustituido opcionalmente con entre uno y tres sustituyentes seleccionados de forma independiente entre oxo y alquilo C₁-C₃. En otras realizaciones, R² y R³ se consideran en conjunto para formar un cicloalquilo C₅, o un heterocicloalquilo de 4-6 miembros, donde dicho heterocicloalquilo de 4-6 miembros se selecciona del grupo que
10 consiste en un tetrahidrofuranilo, un tetrahidrotienilo, un imidazolidinilo, un oxazolidinilo, un imidazolinilo, un isoxazolidinilo y un pirrolidinilo. En otras realizaciones, R² y R³ se consideran en conjunto para formar un cicloalquilo C₅ y R¹ es un tieno[3,2-c]piridinilo o un tieno[2,3-c]piridinilo.

En determinadas realizaciones, un compuesto de la presente invención es (2-(6-metilpiridin-2-il)-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopenta[c]pirazol-3-il)tieno[3,2-c]piridina, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

15 En determinadas realizaciones, un compuesto de la presente invención es 2-(2-(6-metilpiridin-2-il)-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopenta[c]pirazol-3-il)tieno[2,3-c]piridina, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otras realizaciones, R² y R³ se seleccionan de forma independiente del grupo que consiste en: hidrógeno, alquilo C₁-C₃, -(alquil-C₁-C₃)-O-(alquil-C₁-C₃), -O-alquil-C₁-C₃, -C(O)O-alquil-C₁-C₃, -C(O)O-H, -C(O)nR³⁰R³¹, halo, -CN, -OH, y un cicloalquilo C₃-C₆, donde R³⁰ y R³¹ se seleccionan de forma independiente del grupo que consiste en: H y alquilo C₁-C₃. En realizaciones particulares, R² y R³ se seleccionan de forma independiente del grupo que consiste
20 en: hidrógeno y alquilo C₁-C₃. En realizaciones más particulares, R² es alquilo C₁-C₂ y R³ es hidrógeno.

En determinadas realizaciones, R⁵, R⁶ y R⁷ son H, y R⁴ es alquilo C₁-C₃. En otras realizaciones adicionales, R⁴ es metilo. En determinadas realizaciones, R⁵, R⁶ y R⁷ son H, y R⁴ es metilo.

En determinadas realizaciones, R¹ es un tieno[3,2-c]piridinilo o un tieno[2,3-c]piridinilo, que puede estar sustituido opcionalmente con entre uno y tres sustituyentes seleccionados de forma independiente del grupo que consiste en: -
25 OH, alquilo C₁-C₃, halo y -O-alquil-C₁-C₃.

En determinadas realizaciones, R¹ es un tieno[3,2-c]piridin-2-ilo o un tieno[2,3-c]piridin-2-ilo, que puede estar sustituido opcionalmente con entre uno y tres sustituyentes seleccionados de forma independiente del grupo que
30 consiste en: -OH, alquilo C₁-C₃, halo y -O-alquil-C₁-C₃.

En determinadas realizaciones, R¹ es un tieno[3,2-c]piridin-2-ilo, que puede estar sustituido opcionalmente con entre uno y tres sustituyentes seleccionados de forma independiente del grupo que consiste en: -OH, alquilo C₁-C₃, halo y
-O-alquil-C₁-C₃. En realizaciones particulares, R¹ es tieno[3,2-c]piridinil-2-ilo.

En determinadas realizaciones, R⁵, R⁶ y R⁷ son H; R⁴ es un alquilo C₁-C₃; y R¹ es un tieno[3,2-c]piridinilo o un tieno[2,3-c]piridinilo, que puede estar sustituido opcionalmente con entre uno y tres sustituyentes seleccionados de
35 forma independiente del grupo que consiste en: -OH, alquilo C₁-C₃, halo y -O-alquil-C₁-C₃. En determinadas realizaciones, R⁵, R⁶ y R⁷ son H; R⁴ es metilo; y R¹ es un tieno[3,2-c]piridinilo o un tieno[2,3-c]piridinilo, que puede estar sustituido opcionalmente con entre uno y tres sustituyentes seleccionados de forma independiente del grupo que consiste en: -OH, alquilo C₁-C₃, halo y -O-alquil-C₁-C₃. En determinadas realizaciones, R⁵, R⁶ y R⁷ son H; R⁴ es metilo; y R¹ es un tieno[3,2-c]piridinilo o un tieno[2,3-c]piridinilo. En determinadas realizaciones, R⁵, R⁶ y R⁷ son H; R⁴ es metilo; y R¹ es un tieno[2,3-c]piridinilo. En determinadas realizaciones, R⁵, R⁶ y R⁷ son H; R⁴ es metilo; y R¹ es un tieno[3,2-c]piridinilo.
40

En determinadas realizaciones, R⁵, R⁶ y R⁷ son H; R⁴ es metilo; y R¹ es un tieno[2,3-c]piridinilo; y R² y R³ son seleccionados de forma independiente del grupo que consiste en: hidrógeno y alquilo C₁-C₃.

En determinadas realizaciones, R⁵, R⁶ y R⁷ son H; R⁴ es metilo; y R¹ es un tieno[3,2-c]piridinilo; y R² y R³ son seleccionados de forma independiente del grupo que consiste en: hidrógeno y alquilo C₁-C₃.

45 En determinadas realizaciones, R⁵, R⁶ y R⁷ son H; R⁴ es metilo; y R¹ es un tieno[2,3-c]piridin-2-ilo; y R² y R³ son seleccionados de forma independiente del grupo que consiste en: hidrógeno y alquilo C₁-C₃.

En determinadas realizaciones, R⁵, R⁶ y R⁷ son H; R⁴ es metilo; y R¹ es un tieno[3,2-c]piridinil-2-ilo; y R² y R³ son seleccionados de forma independiente del grupo que consiste en: hidrógeno y alquilo C₁-C₃.

Los ejemplos de compuestos de fórmula I incluyen:

50 2-[1-(6-metilpiridin-2-il)-1H-pirazol-5-il]tieno[3,2-c]piridina;

2-[3,4-dimetil-1-(6-metilpiridin-2-il)-1H-pirazol-5-il]tieno[3,2-c]piridina;

2-[3-metil-1-(6-metilpiridin-2-il)-1H-pirazol-5-il]tieno[3,2-c]piridina;

2-[3-etil-1-(6-metilpiridin-2-il)-1H-pirazol-5-il]tieno[3,2-c]piridina;

2-[4-etil-1-(6-metilpiridin-2-il)-1H-pirazol-5-il]tieno[3,2-c]piridina; y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

- 5 Otro ejemplo de un compuesto de fórmula I es 2-[4-metil-1-(6-metilpiridin-2-il)-1H-pirazol-5-il]tieno[3,2-c]piridina; y las sales farmacéuticamente aceptables del mismo. En una realización particular, el compuesto es 2-[4-metil-1-(6-metilpiridin-2-il)-1H-pirazol-5-il]tieno[3,2-c]piridina.

Otro ejemplo de un compuesto de fórmula I es 2-(4-metil-1-(6-metilpiridin-2-il)-1H-pirazol-5-il)tieno[2,3-c]piridina; o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

- 10 En otro aspecto, la presente invención proporciona los compuestos de fórmula (I) para su uso en métodos de reducción de la formación de cicatrices, que comprende administrar a un mamífero que necesite dicho tratamiento una cantidad terapéuticamente efectiva de dicho compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En determinadas realizaciones, el compuesto de fórmula I se administra tópicamente. En determinadas realizaciones, el compuesto de fórmula I es 2-[4-metil-1-(6-metilpiridin-2-il)-1H-pirazol-5-il]tieno[3,2-c]piridina; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En determinadas realizaciones, la presente invención proporciona los compuestos de fórmula (I) para uso en métodos de reducción de cicatrices existentes, que comprende la administración a un mamífero que necesite dicho tratamiento de una cantidad terapéuticamente efectiva de dicho compuesto, o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 20 En determinadas realizaciones, se puede usar 2-[4-metil-1-(6-metilpiridin-2-il)-1H-pirazol-5-il]tieno[3,2-c]piridina; o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, en la fabricación de un medicamento para la inhibición de la formación de cicatrices.

En otro aspecto, la presente invención proporciona los compuestos de fórmula (I) para uso en métodos de tratamiento de una afección mediada por TGF β , que comprende administrar a un mamífero que necesite dicho tratamiento una cantidad terapéuticamente efectiva de dicho compuesto, o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En determinadas realizaciones, la afección mediada por TGF β se selecciona del grupo que comprende: cáncer, cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de colon, cáncer de próstata, cáncer de ovario, cáncer de páncreas, melanoma, enfermedades fibróticas, glomerulonefritis, nefropatía diabética, fibrosis hepática, fibrosis pulmonar, hiperplasia arterial, restenosis, soleroderma y cicatrización dérmica. En determinadas realizaciones, la afección mediada por TGF β es cicatrización dérmica y el compuesto de fórmula I es 2-[4-metil-1-(6-metilpiridin-2-il)-1H-pirazol-5-il]tieno[3,2-c]piridina; o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

- 30 En otro aspecto, la presente invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden: una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de fórmula I y un excipiente farmacéuticamente aceptable. En determinadas realizaciones, el compuesto de fórmula I es 2-[4-metil-1-(6-metilpiridin-2-il)-1H-pirazol-5-il]tieno[3,2-c]piridina; o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

- 35 En otro aspecto, la presente invención proporciona composiciones farmacéuticas tópicas que comprenden: una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un excipiente farmacéuticamente aceptable adecuado para aplicación tópica. En determinadas realizaciones, el compuesto de fórmula I es 2-[4-metil-1-(6-metilpiridin-2-il)-1H-pirazol-5-il]tieno[3,2-c]piridina; o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

- 40 En un aspecto adicional, la invención está dirigida a un kit que contiene al menos uno de los compuestos de la presente invención envasado para su distribución comercial, acompañado de instrucciones que aconsejen al consumidor sobre cómo usar el compuesto para aliviar la afección mediada por TGF β . Una realización adicional está dirigida al uso de un compuesto como agente de diagnóstico para detectar la activación inapropiada de un mecanismo activado por TGF β .

Definiciones

Tal como se usan a lo largo de la presente solicitud, incluyendo las reivindicaciones, los siguientes términos tienen los significados definidos a continuación, a menos que se indique específicamente lo contrario.

El plural y el singular deberían ser tratados como intercambiables, aparte de como indicación del número:

- Una "cicatriz" es una marca que está presente después de la reparación de una herida en la zona de la herida. El término "cicatriz" incluye cicatrices queloides, cicatrices hipertróficas y cicatrices que no están predominantemente elevadas y que no crecen predominantemente por encima de los límites de la herida original.
- 5 Una "cicatriz queloide" es un sobrecrecimiento de tejido de cicatrización en la zona de una herida, que típicamente crece más allá de los límites de la herida original.
- Una "cicatriz hipertrófica" es una cicatriz elevada que no crece predominantemente más allá de los límites de la herida original.
- 10 El término "herida" se refiere a una lesión que altera la integridad normal de un tejido, tal como la piel. Una "herida" puede ser producida intencionalmente o accidentalmente. Los ejemplos de heridas incluyen laceraciones, heridas de contusión, heridas cerradas, heridas abiertas, heridas de perforación, heridas de incisión, heridas de punción, quemaduras, etc.
- Los términos "compuestos de Fórmula I", "compuestos de la invención" y "compuestos" se usan de manera intercambiable a lo largo de la solicitud y deberían ser tratados como sinónimos.
- 15 El término "paciente" se refiere a animales de sangre caliente tales como, por ejemplo, cobayas, ratones, ratas, jerbos, gatos, conejos, perros, monos, chimpancés, macacos de cola de muñón y humanos.
- El término "tratar" se refiere a la capacidad de los compuestos para aliviar, rebajar o frenar la progresión de la enfermedad (o afección) del paciente, o cualquier daño a tejido asociado a la enfermedad.
- 20 El término "mamífero" se refiere a un miembro de la clase *Mammalia*. Los ejemplos de mamíferos incluyen, aunque sin limitación, humanos, primates, chimpancés, roedores, ratones, ratas, conejos, caballos, ganado, perros, gatos, ovejas y vacas. En una realización particular, un mamífero es un humano.
- El término "isómero" significa "estereoisómero" e "isómero geométrico" como se define más adelante.
- El término "estereoisómero" significa compuestos que poseen uno o más centros quirales y cada centro puede existir en la configuración R ó S. Los estereoisómeros incluyen todas las formas diastereoméricas, enantioméricas y epiméricas, así como los racematos y las mezclas de los mismos.
- 25 El término "isómero geométrico" significa compuestos que pueden existir en formas cis, trans, anti, *entgegen* (E) y *zusammen* (Z), así como las mezclas de los mismos.
- Determinados compuestos de fórmula (I) pueden existir como isómeros geométricos. Los compuestos de fórmula (I) pueden poseer uno o más centros asimétricos, existiendo por tanto dos, o más, formas estereoisoméricas. La presente invención incluye todos los estereoisómeros e isómeros geométricos individuales de los compuestos de fórmula (I) y las mezclas de los mismos. Los enantiómeros individuales se pueden obtener mediante separación quiral, usando elementos de construcción sintéticos disponibles que incorporen el centro asimétrico relevante con la estequiometría apropiada en la síntesis, o mediante síntesis asimétrica comenzando con elementos de construcción sintéticos aquirales.
- 30 Determinados compuestos de la presente invención pueden existir como formas tautoméricas. Todas esas formas tautoméricas se incluyen dentro del alcance de la presente invención.
- 35 Adicionalmente, los compuestos de la presente invención pueden existir en forma solvatada y no solvatada, que incluye las formas hidratadas, con disolventes farmacéuticamente aceptables tales como agua, etanol y otros similares. Los compuestos también pueden existir en uno o más estados cristalinos, es decir, polimorfos, o pueden existir como sólidos amorfos. Se pretende que todas estas formas estén abarcadas por el alcance de la presente invención.
- 40 El término "grupo alquilo" o "alquilo" significa un radical monovalente de un alcano de cadena lineal o ramificada. Por ejemplo, un "alquilo C₁-C₃" es un grupo alquilo que tiene entre 1 y 3 átomos de carbono. Los ejemplos de grupos alquilo C₁-C₃ de cadena lineal incluyen metilo, etilo y n-propilo. Los ejemplos de grupos alquilo C₁-C₃ de cadena ramificada incluyen isopropilo.
- 45 El término alquilo incluye tanto "alquilos no sustituidos" como "alquilos sustituidos", refiriéndose los últimos a grupos alquilo que presentan sustituyentes reemplazando un hidrógeno de uno o más carbonos (p. ej., de uno a seis sustituyentes) de la cadena hidrocarbonada. Dichos sustituyentes pueden seleccionarse de forma independiente del grupo que consiste en: halo, I, Br, Cl, F, -OH, -COOH y -NH₂.
- 50 Los grupos alquilo C₁-C₃ de cadena lineal sustituidos típicos incluyen 2-cloropropilo, 2-hidroxi-etilo, 2-aminopropilo y trifluorometilo.

El término “cicloalquilo C₃-C₆” se refiere a un radical monovalente de un alcano monocíclico que contiene entre 3 y 6 átomos de carbono. Los ejemplos de “cicloalquilos C₃-C₆” incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y ciclohexilo.

El término “cicloalquilo C₄-C₆” se refiere a un radical monovalente de un alcano monocíclico que contiene entre 4 y 6 átomos de carbono. Los ejemplos de “cicloalquilos C₄-C₆” incluyen ciclobutilo, ciclopentilo y ciclohexilo.

- 5 Un “heterocicloalquilo de 4-6 miembros” se refiere a un radical monovalente de un heterocicloalcano monocíclico de 4-6 miembros.

Un heterocicloalquilo de 4 miembros es un anillo de 4 miembros que contiene 3 carbonos y un heteroátomo seleccionado entre oxígeno, nitrógeno, azufre. El azufre también puede estar presente como S(O) ó S(O)₂. Los ejemplos de grupos heterocicloalquilo de 4 miembros incluyen oxetanilo, tietanilo y azetidínilo.

- 10 Un heterocicloalquilo de 5 miembros contiene entre 2 y 4 átomos de carbono y entre 1 y 3 heteroátomos seleccionados del grupo que consisten en: 1 O; 1 S; 1 N; 2 N; 1 S y 1 N; 1 S y 2 N; 1 O y 1 N; y 1 O y 2 N, donde cuando están presentes dos átomos de O ó un átomo de O y un átomo de S en un anillo, los dos átomos de O ó el átomo de O y el átomo de S no están enlazados directamente uno a otro. También puede haber presente un azufre como S(O) ó S(O)₂. Los ejemplos de heterocicloalquilos de 5 miembros incluyen tetrahidrofuranilo, tetrahidrotienilo, imidazolidínilo, oxazolidínilo, imidazolinilo, isoxazolidínilo y pirrolidínilo.

- 15 Un heterocicloalquilo de 6 miembros contiene entre 3 y 5 átomos de carbono y entre 1 y 3 heteroátomos seleccionados del grupo que consisten en: 1 O; 2 O; 1 S; 2 S; 1 N; 2 N; 3 N; 1 S, 1 O y 1 N; 1 S y 1 N; 1 S y 2 N; 1 S y 1 O; 1 S y 2 O; 1 O y 1 N; y 1 O y 2 N, donde cuando están presentes dos átomos de O ó un átomo de O y un átomo de S en un anillo, los dos átomos de O ó el átomo de O y el átomo de S no están enlazados directamente uno a otro. También puede haber presente un azufre como S(O) ó S(O)₂. Los ejemplos de heterocicloalquilos de 6 miembros incluyen tetrahidropiranilo, dioxanilo, 1,3-dioxolanilo, 1,4-ditianilo, hexahidropirimidina, morfolina, piperacínilo, piperidínilo, pirazolidínilo, pirazolinilo, 1,2,3,6-tetrahidropiridinilo, tetrahidrotiopiranilo, 1,1-dioxo-hexahidro-1λ⁶-tiopiranilo, 1,1-dioxo-1λ⁶-tiomorfolinilo, tiomorfolinilo, tiofanilo y 1,3,5-tritianilo.

- 20 Un “heteroarilo de 5 miembros” es un radical de anillo aromático monocíclico de 5 miembros que tiene entre 2 y 4 átomos de carbono y entre 1 y 3 heteroátomos seleccionados del grupo que consiste en: 1 O; 1 S; 1 N; 2 N; 3 N; 1 S y 1 N; 1 S y 2 N; 1 O y 1 N; y 1 O y 2 N. En determinadas realizaciones, un heteroarilo de 5 miembros se selecciona del grupo que consiste en furanilo, imidazolilo, isoxazolilo, isotiazolilo, oxadiazolilo, oxazolilo, pirazolilo, pirrolilo, tienilo, tiazolilo y triazolilo.

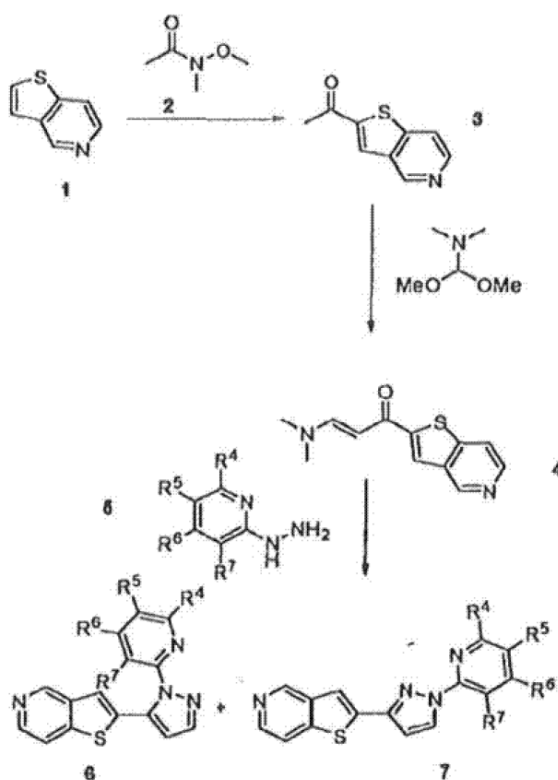
- 25 Un “heteroarilo de 6 miembros” es un radical de anillo aromático monocíclico de 6 miembros que tiene entre 4 y 5 átomos de carbono y entre 1 y 2 heteroátomos seleccionados del grupo que consiste en: 1 N; y 2 N. En determinadas realizaciones, se selecciona un heteroarilo de 6 miembros del grupo que consiste en piridinilo, pirimidínilo, piridacínilo y piracínilo.

Descripción detallada de la invención

Preparación de compuestos

- 35 A continuación se establecen los esquemas sintéticos generales para preparar compuestos de fórmula I.

Esquema 1



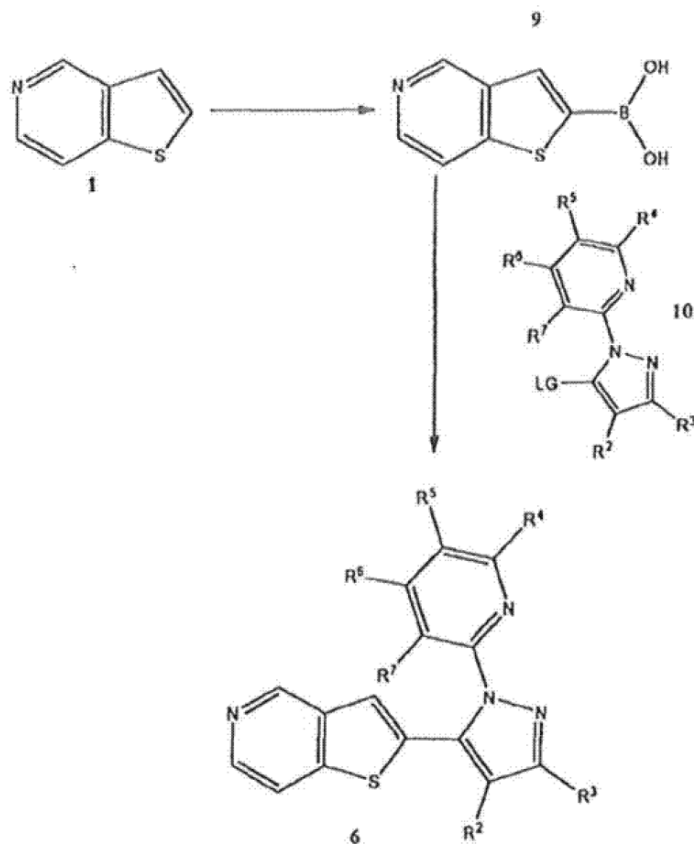
El Esquema 1 muestra la síntesis de pirazol 6. Se puede hacer reaccionar una tieno[3,2-c]piridina (véase, p. ej., Wikel et al. (1993) *J. Het. Chem.*, 30: 289-290) en un disolvente aprótico, tal como THF (tetrahidrofurano), dietiléter, etc. con un reactivo de alquililitio tal como n-butillitio a una temperatura de -40°C o inferior. La tieno[3,2-c]piridina se muestra sin sustituir en el Esquema 1, sin embargo puede encontrarse sustituida opcionalmente como se ha descrito en la presente memoria. A continuación se añade a la reacción N-metil-N-metoxiacetamida 2 (u otros agentes acilantes adecuados, tales como N-acetil-morfolina, anhídrido acético y cloruro de acetilo) y se deja que la reacción evolucione a entre -30°C y -45°C para proporcionar la cetona 3 (p. ej., 1-(tieno[3,2-c]piridin-2-il)etanona).

5

A continuación se hace reaccionar la cetona 3 con dimetoxi-N,N-dimetilmetamina ("DMF-DMA") en DMF (dimetilformamida) a aproximadamente 70°C para proporcionar 4 (p. ej., (E)-3-(dimetilamino)-1-(tieno[3,2-c]piridin-2-il)prop-2-en-1-ona). 4 es tratado con una piridinil-hidracina 5 (p. ej., 1-(6-metilpiridin-2-il)hidracina) en ácido acético a aproximadamente 80°C para dar lugar a los regioisómeros 6 y 7. El regioisómero 7 puede separarse del 6 para producir 6 usando técnicas de purificación convencionales tales como precipitación, filtración y cromatografía en columna.

10

Esquema 2



El Esquema 2 muestra una ruta sintética alternativa para el pirazol 6. Se puede hacer reaccionar una disolución de una tieno[3,2-c]piridina en atmósfera de gas nitrógeno, en un disolvente tal como THF a aproximadamente entre -50°C y -78°C con un reactivo de alquil-litio tal como n-butillitio. La tieno[3,2-c]piridina se muestra sin sustituir en el Esquema 2, sin embargo puede encontrarse sustituida opcionalmente como se ha descrito en la presente memoria. La adición de borato de triisopropilo y ácido fosfórico produce la sal de ácido fosfórico del ácido borónico 9. El boronato 9 se acopla entonces al piridinil-pirazol 10 para proporcionar el pirazol 6, mediante la adición de una base tal como una base de carbonato inorgánico (p. ej., Na₂CO₃, K₂CO₃, NaHCO₃, etc.) o fosfato potásico tribásico, y un catalizador de paladio tal como Pd(Cl₂)dppf (dicloro (1,1 bis(difenilfosfino) ferroceno) paladio(II)) y dppf [(1,1 bis(difenilfosfino) ferroceno). La reacción se puede llevar a cabo llevando a reflujo durante 1-24 horas en un disolvente adecuado tal como THF ó 1,2-dimetoxietano; o a aproximadamente 80-100°C en dioxano. Esta reacción también puede llevarse a cabo en presencia de KF y agua. Se pueden usar los correspondientes ésteres de boronato en lugar del ácido borónico 9. El grupo LG de 10 representa un grupo saliente (del inglés "leaving group") adecuado tal como trifluorometanosulfonilo, Br, I ó Cl. Se pueden preparar los correspondientes análogos de tieno[3,2-b]piridin-ilo, tieno[2,3-c]piridin-2-ilo y tieno[2,3-b]piridin-2-ilo de 6 usando tieno[3,2-b]piridina, tieno[2,3-c]piridina y tieno[2,3-b]piridina, respectivamente, en lugar de 1.

Sales farmacéuticamente aceptables

Los compuestos de la presente invención (p. ej., compuestos de Fórmula I) pueden ser capaces de formar sales farmacéuticamente aceptables, que incluyen, aunque sin limitación, sales de adición ácidas y/o básicas. Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de fórmula (I) incluyen las sales de adición ácida y básica (incluyendo disales) de los mismos. Los ejemplos de sales se pueden encontrar, por ejemplo, en Stahl y Wermuth, "Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use", Wiley-VCH, Weinheim, Alemania (2002); y Berge et al., "Pharmaceutical Salts", J. of Pharmaceutical Science, 1977; 66: 1-19.

Las sales de adición ácida farmacéuticamente aceptables de los compuestos de Fórmula I incluyen sales no tóxicas derivadas de ácidos inorgánicos tales como los ácidos clorhídrico, nítrico, fosfórico, sulfúrico, bromhídrico, yodhídrico, fosforoso, y otros similares, así como las sales derivadas de ácidos orgánicos, tales como ácidos mono- y di-carboxílicos alifáticos, ácidos alcanóicos sustituidos con fenilo, ácidos hidroxialcanóicos, ácidos alcanodioicos, ácidos aromáticos, ácidos sulfónicos alifáticos y aromáticos, etc. Por tanto, dichas sales incluyen las sales de

5 acetato, aspartato, benzoato, besilato (bencenosulfonato), bicarbonato/carbonato, bisulfato, caprilato, camsilato (camfor sulfonato), clorobenzoato, citrato, edisilato (1,2-etano disulfonato), dihidrogenofosfato, dinitrobenzoato, esilato (etano sulfonato), fumarato, gluceptato, gluconato, glucuronato, hibenzato, hidrocioruro/cloruro, hidrobromuro/bromuro, hidroyoduro/yoduro, isobutirato, monohidrógeno fosfato, isetionato, D-lactato, L-lactato, malato, maleato, malonato, mandelato, mesilato (metanosulfonato), metafosfato, metilbenzoato, metilsulfato, 2-napsilato (2-naftaleno sulfonato), nicotinato, nitrato, orolato, oxalato, palmoato, fenilacetato, fosfato, ftalato, propionato, pirofosfato, pirofosfato, sacarato, sebacato, estearato, suberato, succinato, sulfato, sulfito, D-tartrato, L-tartrato, tosilato (tolueno sulfonato) y xinafoato, y otras similares, de los compuestos de Fórmula I. También se contemplan las sales de aminoácidos tales como arginato, gluconato, galacturonato y otras similares

10 Las sales de adición ácido de los compuestos básicos se pueden preparar poniendo en contacto la forma básica libre con una cantidad suficiente del ácido deseado para producir una sal particular. La forma básica libre puede regenerarse poniendo en contacto la forma de sal con una base y aislando la base libre. Las formas básicas libres pueden diferir de sus formas de sal respectivas algo en determinadas propiedades físicas tales como la solubilidad en disolventes polares.

15 Las sales de adición básica farmacéuticamente aceptables se pueden formar con metales o aminas, tales como hidróxidos de metales alcalinos y alcalinotérreos, o aminas orgánicas. Los ejemplos de metales usados como cationes son aluminio, calcio, magnesio, potasio, sodio y otros similares. Los ejemplos de aminas adecuadas incluyen arginina, colina, cloroprocaína, N,N'-dibenciletilendiamina, dietilamina, dietanolamina, diolamina, etilendiamina (etano-1,2-diamina), glicina, lisina, meglumina, N-metilglucamina, olamina, procaína (benzatina) y trometamina.

20 Las sales de adición básicas de compuestos ácidos pueden prepararse poniendo en contacto la forma ácida libre con una cantidad suficiente de la base deseada para producir la sal de un modo convencional. La forma ácida libre puede regenerarse poniendo en contacto la forma salina con un ácido y aislando el ácido libre. Las formas ácidas libres pueden diferir de sus respectivas formas salinas algo en determinadas propiedades físicas tales como la solubilidad en disolventes polares.

25 Composiciones farmacéuticas

Generalmente, los compuestos de la presente invención pueden administrarse como una composición farmacéutica, que comprende uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. La frase "composición farmacéutica" se refiere a una composición adecuada para administración en uso médico o veterinario. La frase "cantidad terapéuticamente efectiva" significa una cantidad de un compuesto, o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, suficiente para inhibir, detener o permitir una mejoría en la enfermedad que está siendo tratada cuando se administra solo o en conjunción con otro agente farmacéutico o tratamiento en un sujeto particular o en una población objetivo. Por ejemplo, en un humano u otro mamífero, una cantidad terapéuticamente efectiva se puede determinar experimentalmente en un laboratorio o instalación clínica, para la enfermedad y sujeto particulares que estén siendo tratados.

30 Cabe destacar que la determinación de las formas de dosis, de las cantidades de dosis y de las rutas de administración apropiadas se encuentra dentro del nivel del especialista en las técnicas farmacéuticas y médicas, y se describe a continuación.

40 El término "excipiente" se usa en la presente memoria para describir cualquier ingrediente diferente a el(los) compuesto(s) de la invención. La elección de excipiente depende habitualmente de una gran variedad de factores tales como el modo particular de administración, el efecto del excipiente sobre la solubilidad y la estabilidad y la naturaleza de la forma de dosis. Los excipientes farmacéuticamente aceptables se determinan en parte mediante la composición particular que esté siendo administrada, así como mediante el método particular usado para administrar la composición. Por consiguiente, existe una amplia variedad de formulaciones adecuadas de composiciones farmacéuticas de la presente invención (véase, p. ej., "Remington: The Science and Practice of Pharmacy², 20^a ed., Gennaro et al., Eds., Lippincott Williams y Wilkins, 2000).

45 Se puede formular un compuesto de la presente invención como una composición farmacéutica en la forma de un jarabe, un elixir, una suspensión, un polvo, un gránulo, un comprimido, una cápsula, un pastilla, una disolución acuosa, una crema, un ungüento, una loción, un gel, una emulsión, etc.

50 Para preparar composiciones farmacéuticas a partir de los compuestos de la presente invención, los excipientes farmacéuticamente aceptables habitualmente son excipientes sólidos y líquidos. Las preparaciones en forma sólida incluyen polvos, comprimidos, píldoras, cápsulas, supositorios y gránulos dispersables. Un excipiente sólido puede ser una o más sustancias que también pueden actuar como diluyentes, agentes aromatizantes, aglomerantes, conservantes, agentes desintegrantes de comprimidos o un material encapsulante.

En los polvos, el excipiente habitualmente es un sólido finamente dividido que está mezclado con un componente activo finamente dividido. En los comprimidos, el componente activo se mezcla con el excipiente que tiene las propiedades aglomerantes necesarias en proporciones adecuadas y se compacta en la forma y tamaño deseados.

5 Los polvos y los comprimidos contienen habitualmente entre un 1% y un 95% (p/p) del compuesto activo. En determinadas realizaciones, el compuesto activo oscila entre el 5% y el 70% (p/p). Los excipientes adecuados son carbonato de magnesio; estearato de magnesio, talco, azúcar, lactosa, pectina, dextrina, almidón, gelatina, tragacanto, metilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica, una cera de bajo punto de fusión, manteca de cacao, y otros similares. El término "preparación" pretende incluir la formulación del compuesto activo con material encapsulante como un excipiente que proporciona una cápsula en la que el componente activo con o sin otros excipientes, está rodeado por un excipiente, que por tanto está en asociación con él. De forma similar, se incluyen las pastillas y píldoras. Los comprimidos, polvos, cápsulas, píldoras y pastillas se pueden usar como formas de dosis sólidas adecuadas para administración oral.

15 Para preparar supositorios, en primer lugar se funde una cera de bajo punto de fusión, tal como una mezcla de glicéridos de ácidos grasos o manteca de cacao, y el componente activo se dispersa homogéneamente en ella, con agitación. La mezcla fundida homogénea puede verterse a continuación en moldes de tamaño conveniente, se deja enfriar y de eso modo se solidifica.

20 Las preparaciones de forma líquida incluyen disoluciones, suspensiones y emulsiones, por ejemplo, disoluciones en agua o agua/propilenglicol. Las preparaciones líquidas se pueden preparar disolviendo el ingrediente activo en un disolvente acuoso o no acuoso farmacéuticamente aceptable, que también puede contener agentes de suspensión, agentes edulcorantes, agentes aromatizantes y agentes conservantes, conocidos en la técnica.

También se incluyen preparaciones en forma sólida para ser convertidas, justo antes de su uso, en preparaciones en forma líquida para administración oral. Dichas formas líquidas incluyen disoluciones, suspensiones y emulsiones. Estas preparaciones pueden contener, además del componente activo, colorantes, aromas, estabilizantes, tampones, edulcorantes artificiales y naturales, dispersantes, espesantes, agentes solubilizantes y otros similares.

25 Un compuesto de la presente invención, solo o en combinación con otros componentes adecuados, se puede preparar en formulaciones de aerosol (es decir, se pueden "nebulizar") para ser administradas por inhalación. Las formulaciones de aerosol se pueden disponer en propelentes presurizados aceptables, tal como diclorodifluorometano, propanonitrógeno y otro similares.

30 Una composición tópica según la presente invención puede estar en forma de disoluciones, lociones, pomadas, cremas, ungüentos, liposomas, sprays, geles, espumas, barras giratorias o cualquier otra formulación usada rutinariamente para administrar una composición farmacéutica tópica.

35 Las formulaciones adecuadas para administración parenteral, tal como, mediante ruta intravenosa, intramuscular, intradérmica y subcutánea, incluyen disoluciones para inyección esterilizadas isotónicas, acuosas y no acuosas, que pueden contener antioxidantes, tampones, bacterioestatos y solutos que hacen isotónica la formulación con la sangre del destinatario, y suspensiones esterilizadas acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión, solubilizantes, agentes espesantes, estabilizantes y conservantes.

40 La preparación farmacéutica preferiblemente se encuentra en forma de dosis unitaria. En dicha forma, la preparación se subdivide en dosis unitarias que contienen cantidades apropiadas del componente activo. La forma de dosis unitaria puede ser una preparación envasada, conteniendo el envase cantidades discretas de preparación, tal como comprimidos, cápsulas y polvos envasados en viales o ampollas. Asimismo, la forma de dosis unitaria puede ser una cápsula, comprimido, pastilla o píldora en sí misma, o puede encontrarse en el número apropiado de éstos en forma envasada. Las formulaciones de compuestos se pueden presentar en recipientes sellados monodosis o multidosis, tal como ampollas y viales.

45 Las composiciones que contienen un compuesto de la presente invención se pueden envasar para distribución comercial (es decir, un artículo de fabricación). Dichos artículos pueden estar etiquetados y envasados de un modo que instruya al paciente sobre cómo usar el producto. Dichas instrucciones pueden incluir la afección a tratar, la duración del tratamiento, la posología, etc.

50 La cantidad de componente activo en una preparación de dosis unitaria puede variarse o ajustarse entre 0,1 mg y 1000 mg, preferiblemente entre 1,0 mg y 100 mg, o entre 0,01% y 95% (p/p) de una dosis unitaria, según la aplicación particular y la potencia del componente activo. La dosis administrada a un sujeto, en el contexto de la presente invención debería ser suficiente para efectuar una respuesta terapéutica beneficiosa en el sujeto con el tiempo. La composición también puede contener, si se desea, otros agentes terapéuticos compatibles.

55 La determinación de la dosis apropiada para una situación particular se encuentra dentro de las capacidades del médico. La dosis se determinará habitualmente a través de la eficacia del compuesto particular empleado y la afección del sujeto, la gravedad de la enfermedad a tratar, así como el peso corporal o el área superficial del sujeto a

tratar. El tamaño de la dosis también se determinará a través de la existencia, naturaleza y extensión de cualesquier efectos secundarios adversos que acompañen a la administración de un compuesto particular en un sujeto concreto. Para determinar la cantidad efectiva del compuesto a administrar en el tratamiento o profilaxis de la enfermedad a tratar, el médico puede evaluar factores tales como los niveles en plasma en circulación del compuesto, las toxicidades del compuesto y/o la progresión de la enfermedad, etc. Adicionalmente, los compuestos de la presente invención se pueden administrar a un ritmo determinado por factores que pueden incluir el perfil farmacocinético del compuesto, fármacos contraindicados y los efectos secundarios del compuesto a diversas concentraciones, en base a la masa y salud general del sujeto.

Generalmente, el tratamiento se inicia con dosis más pequeñas, que son inferiores a la dosis óptima del compuesto. Después se incrementa la dosis con incrementos pequeños hasta alcanzar el efecto óptimo en las circunstancias consideradas. Para mayor comodidad, la dosis diaria total se puede dividir y administrarse en porciones durante el día, si se desea.

Métodos de uso

Aunque un compuesto de la presente invención se puede usar lo más habitualmente para reducir la formación de cicatrices, la invención no se limita a esta afección específica. Se puede usar un compuesto de la presente invención para reducir una cicatriz existente. También se puede usar un compuesto de la presente invención para aliviar cualquier tipo de afección mediada por TGF β . Los ejemplos de las afecciones mediadas por TGF β incluyen todos los tipos de cáncer (p. ej., de mama, de pulmón, de colon, de próstata, de ovario, de páncreas, melanoma, todas las malignidades hematológicas, etc.), así como todos los tipos de enfermedades fibróticas (p. ej., glomerulonefritis, nefropatía diabética, fibrosis hepática, fibrosis pulmonar, hiperplasia arterial y restenosis, escleroderma y cicatrización dérmica). En una realización particular, la afección mediada por TGF β es cicatrización dérmica.

El término “administrar” se refiere al método de poner en contacto un compuesto con un sujeto. De este modo, los compuestos de la presente invención se pueden administrar a través de una variedad de rutas que incluyen la inyección, es decir, intravenosamente, intramuscularmente, intracutáneamente, subcutáneamente, intraduodenalmente, parenteralmente o intraperitonealmente. Asimismo, los compuestos descritos en la presente memoria se pueden administrar por inhalación, por ejemplo, intranasalmente. Adicionalmente, los compuestos de la presente invención se pueden administrar transdermalmente, tópicamente y vía implante. En determinadas realizaciones, los compuestos de la presente invención se administran oralmente. Los compuestos también se pueden administrar rectalmente, bucalmente, intravaginalmente u ocularmente.

Cuando se administran para reducir la cicatrización, un compuesto de la presente invención se puede aplicar típicamente a la herida y/o área alrededor de una herida. Por ejemplo, un compuesto de la presente invención se puede administrar tópicamente a una herida en la forma de un parche, disolución, loción, pomada, crema, ungüento, liposoma, spray, gel, espuma, barra giratoria o cualquier otra formulación usada rutinariamente para administrar una composición farmacéutica tópica. Alternativamente, se puede administrar un compuesto de la presente invención mediante inyección en una herida o área alrededor de una herida. En determinadas realizaciones, se puede administrar un compuesto de la presente invención a una herida que ha sido suturada, grapada y/o vendada, etc. En determinadas realizaciones, se administra un compuesto de la presente invención inmediatamente después de que se produzca la herida. En otras realizaciones, se administra un compuesto de la presente invención en menos de 1 hora, 8 horas, 12 horas, 1 día, 2 días, 3 días, 1 semana, 2 semanas, 1 mes, 6 meses, 1 año, o más de 1 año, desde que se haya producido la herida. En una realización particular, la herida se produce mediante una incisión. En determinadas realizaciones, se puede administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la presente invención, o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, a un mamífero que necesite dicho tratamiento para inhibir la formación de cicatrices queloides. En determinadas realizaciones, se puede administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la presente invención, o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, a un mamífero que necesite dicho tratamiento para inhibir la formación de cicatrices hipertróficas. En determinadas realizaciones, son métodos para inhibir la formación de cicatrices, que comprenden administrar a un mamífero que necesite dicho tratamiento una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde la cicatriz se produciría en la piel.

La reducción de la cicatrización o la inhibición de la formación de cicatrices pretenden indicar que los compuestos de la presente invención están relacionados con la reducción de la aparición de una cicatriz, a juicio del paciente o un profesional del cuidado de la salud (p. ej., un médico). La reducción de la cicatrización o la inhibición de la formación de cicatrices pueden venir acompañadas de una mejoría en uno o más de los siguientes indicios, que incluyen la reducción de la deposición de matriz extracelular durante la curación, la reducción de la deposición de colágeno, la reducción del tamaño, la reducción de la forma, la reducción del espesor, la reducción del área superficial, la reducción de la gravedad, la reducción del peso, la mejoría en la coloración, etc.

En una realización típica, el compuesto se administra tópicamente. Tal como se usa en la presente memoria, tópicamente se refiere a la aplicación de compuestos (y del vehículo opcional) directamente sobre la piel o área de la herida. La administración tópica es especialmente apropiada para heridas de la piel. La dosis puede variar, pero

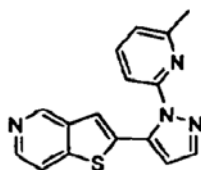
como guía general, el compuesto puede estar presente en un vehículo farmacéuticamente aceptable en una cantidad de entre aproximadamente 0,01 y 50 % p/p, y más típicamente de entre aproximadamente 0,1 y 10 % p/p. La composición farmacéutica puede aplicarse al área afectada entre 1 y 4 veces al día.

5 En realizaciones adicionales de la invención, el compuesto se puede co-administrar con otros compuestos, agentes, o recubrimientos para potenciar su actividad, o para minimizar los potenciales efectos secundarios. Tal como se usa en esta solicitud, co-administrar se refiere a la administración de un compuesto de Fórmula I con un segundo medicamento, que habitualmente tiene un mecanismo acción diferente, usando un régimen de dosificación que promueva el resultado deseable. Esto se puede referir a dosificación simultánea, dosificación a diferentes tiempos durante el mismo día, o incluso a dosificación en días diferentes. Los compuestos se pueden administrar por separado o pueden combinarse en una única formulación. Para la reducción de la cicatrización, se pueden co-administrar agentes, compuestos o recubrimientos con un compuesto de la presente invención, que incluye TGF β ₃, anticuerpos de TGF β ₁, anticuerpos de TGF β ₂, triamcinolone acetonide (9-fluoro-11,16,17-trihidroxi-17-(2-hidroxiacetil)-10,13-dimetil-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-dodecahidrociclopenta[a]fenantren-3-ona), esteroides, corticosteroides, antibióticos, antibióticos tópicos y laminación de silicona. Adicionalmente, se pueden co-administrar agentes, compuestos o recubrimientos a una herida para mejorar la curación de la herida, que incluyen 5-fluoroacilo, estrógeno, agonistas de receptor de nACh (acetilcolina nicotínica), FGF (factor de crecimiento de fibroblastos), EGF (factor de crecimiento epidérmico), IGF (factor de crecimiento de tipo insulina) y PDGF (factor de crecimiento derivado de plaquetas).

20 Adicionalmente, se pueden co-administrar los siguientes agentes terapéuticos con un compuesto de la presente invención para tratar una afección mediada por TGF β . Los ejemplos de agentes terapéuticos adecuados incluyen, aunque sin limitación, agentes anti-inflamatorios estándar no esteroideos (a partir de aquí NSAID) (p. ej., piroxicam, diclofenac), ácidos propiónicos (p. ej., naproxeno, flubiprofeno, fenoprofeno, ketoprofeno e ibuprofeno), fenamatos (p. ej., ácido mefenámico, indometacina, sulindac, apazone), pirazolonas (p. ej., fenilbutazona), salicilatos (p. ej., aspirina), inhibidores de COX-2 (p. ej., celecoxib, valdecoxib y etoricoxib), analgésicos y terapias intraarticulares (p. ej., corticosteroides) y ácidos hialurónicos (p. ej., hyalgan y synvisc), agentes anticancerígenos (p. ej., endostatina y angiostatina), fármacos citotóxicos (p. ej., adriamicina, daunomicina, cis-platino, etoposide, taxol, taxotere), alcaloides (p. ej., vincristina) y antimetabolitas (p. ej., metotrexato), agentes cardiovasculares (p. ej., bloqueadores de canal de calcio), agentes reductores de lípidos (p. ej., estatinas), fibratos, beta-bloqueantes, inhibidores de ACE, antagonistas de receptor de Angiotensina-2 e inhibidores de agregación de plaquetas, agentes del SNC (p. ej., como antidepresivos (tales como sertralina)), fármacos anti-Parkinson (p. ej., deprenil, L-dopa, Requip, Mirapex), inhibidores de MAOB (p. ej., selegina y rasagilina), inhibidores de compP (p. ej., Tasmar), inhibidores de A-2, inhibidores de captación de dopamina, antagonistas de NMDA, agonistas de Nicotina, agonistas de Dopamina e inhibidores de óxido nítrico sintasa neuronal), fármacos anti-Alzheimer (p. ej., donepezil, tacrina, inhibidores de COX-2, propentofilina o metrifonato), agentes de osteoporosis (p. ej., roloxifeno, droloxifeno, lasofoxifeno o fosomax) y agentes inmunosupresores (p. ej., FK-506 y rapamicina).

Aunque la invención se ha descrito en relación a realizaciones específicas de la misma, se entenderá que se pueden dar modificaciones adicionales. Los siguientes ejemplos y datos biológicos se presentan a fin de ilustrar adicionalmente la invención. Esta descripción no debería considerarse como limitante de la invención en modo alguno.

40 Ejemplos



Ejemplo 1. 2-(1-(6-metilpiridin-2-il)-1H-pirazol-5-il)tieno[3,2-c]piridina.

45 Etapa i: Tieno[3,2-c]piridina. Se disolvió tieno[3,2-c]piridina (9,20 g; sólido marrón anaranjado oscuro; véase Wikel et al. (1993) *J. Het. Chem.*, 30: 289-290) en CH₂Cl₂ y se sometió a cromatografía en columna (Biotage Horizon System, columna Isco RediSep de 120 g, equilibrado con hexanos, elución con EtOAc al 45% ("acetato de etilo")/hexanos, isocrático). Las fracciones recogidas fueron un aceite amarillo pálido que se concentró a vacío para producir 8,48 g de un sólido. Alternativamente, también se purificó la tieno[3,2-c]piridina como se indica a continuación: se disolvió tieno[3,2-c]piridina (84,6 g) en aproximadamente 180 mL de diclorometano. La disolución se dividió en tres porciones aproximadamente uniformes. Cada porción fue aplicada a un cartucho de sílice flash (Analogix SuperFlash SF65-400) y se eluyó con un método isocrático (acetato de etilo al 45% o al 50% en hexanos). Las fracciones deseadas fueron concentradas para proporcionar tieno[3,2-c]piridina en forma de un sólido amarillo claro. Tres cromatografías combinadas dieron lugar a un total de 75 g del compuesto del título: RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 9,12 (d, 1H, J=1,0 Hz), 8,44 (d, 1H, J=5,7 Hz), 7,79 (dt, 1H, J=5,7, 1,0H), 7,47 (m, 1H), 7,43 (m, 1H); MS (APCI+) m/z 136 (MH⁺).

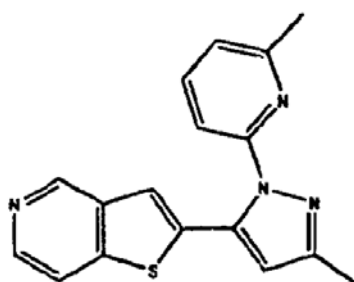
Etapa ii: 1-(tieno[3,2-c]piridin-2-il)etanona. Se enfrió una disolución de tieno[3,2-c]piridina (5,0 g) en 75 mL de THF (tetrahidrofurano) a -45°C en un baño de CH_3CN /hielo seco. Se añadió gota a gota n-butillitio (1,6M en hexanos) (35,0 mL) manteniendo la temperatura interna a -40°C o por debajo. La adición necesitó aproximadamente 45 minutos. La reacción se agitó durante 1 hora a -45°C . Se añadió N-metil-N-metoxiacetamida en 5 mL de THF y como resultado se calentó hasta -30°C . La reacción se agitó a -45°C durante 1,5 horas. La reacción se detuvo con NH_4Cl saturado. La capa acuosa tenía un pH de aproximadamente 8. La capa acuosa se extrajo tres veces en EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera y se secaron sobre MgSO_4 . El material se filtró, se concentró en un rotavapor y se sometió a cromatografía en columna (Biotage Horizon System, columna Analogix de 120 g, equilibrada con hexanos, elución con EtOAc al 50%/hexanos). Las fracciones más puras se concentraron en un rotavapor y a continuación se trituró con Et_2O para eliminar algo de color y recolectar un sólido naranja pálido mediante filtración (2,667 g).

Etapa iii: (E)-3-dimetilamino-1-(tieno[3,2-c]piridin-2-il)prop-2-en-1-ona. Se añadió N,N-dimetilformamida-dimetil-acetal (DMF-DMA) (9,5 mL) a una disolución de 1-(tieno[3,2-c]piridin-2-il)etanona (3,17 g) en 20 mL de DMF. La reacción se calentó a 70°C durante una noche. A continuación se enfrió hasta temperatura ambiente. Se eliminó la DMF en un rotavapor para obtener un sólido marrón anaranjado oscuro. El residuo se diluyó con EtOAc y agua. Se hizo evidente una gran cantidad de sólido amarillo. Éste se recolectó mediante filtración (3,54 g). Dicho sólido se secó a vacío en un horno a 50°C .

Etapa iv: 2-(1-(6-metilpiridin-2-il)-1H-pirazol-5-il)tieno[3,2-c]piridina. Se disolvió (E)-3-(dimetilamino)-1-(tieno[3,2-c]piridin-2-il)prop-2-en-1-ona (3,69 g) y 1-(6-metilpiridin-2-il)hidracina (3,3 g) (que puede sintetizarse como se describe a continuación en el Ejemplo 7, Etapa ii) en 40 mL de ácido acético. La reacción se calentó hasta 80°C durante 4,5 horas. La reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y el disolvente se eliminó en un rotavapor.

El residuo rojo anaranjado profundo se disolvió en EtOAc y se añadió NaHCO_3 saturado hasta que la capa acuosa tenía un pH de aproximadamente 7-8 (aproximadamente 250 mL). La capa acuosa se extrajo cuatro veces en EtOAc. Los extractos orgánicos combinados fueron lavados con salmuera y secados sobre MgSO_4 . El material se filtró, se concentró y se sometió a cromatografía de columna (Biotage Horizon System, columna Isco RediSep de 80 g, 0-50%, mantener a 50%, 50-75%. Mantener a 75% de EtOAc/hexano).

Las fracciones que contienen el material deseado fueron combinadas y se concentraron. El material resultante se disolvió en MeOH caliente y se formó un precipitado al enfriar a temperatura ambiente. Después de una hora a temperatura ambiente, se almacenó el matraz a 4°C durante 3 horas. El sólido fue recolectado por filtración, se lavó con hexanos dando lugar a 2,79 g. El material se disolvió en acetonitrilo en ebullición y se dejó enfriar hasta temperatura ambiente. Una vez que se formó un precipitado, se recogió mediante filtración. El precipitado fue el regioisómero no deseado (2-(1-(6-metilpiridin-2-il)-1H-pirazol-3-il)tieno[3,2-c]piridina). Este proceso se repitió cuatro veces para enriquecer el filtrado de acetonitrilo con el regioisómero deseado (2-(1-(6-metilpiridin-2-il)-1H-pirazol-5-il)tieno[3,2-c]piridina). El filtrado de acetonitrilo al enfriar contenía un precipitado blanco que era el producto deseado. Se obtuvo un rendimiento total de 1,21 g del producto deseado (2-(1-(6-metilpiridin-2-il)-1H-pirazol-5-il)tieno[3,2-c]piridina).



Ejemplo 2. 2-[3-metil-1-(6-metilpiridin-2-il)-1H-pirazol-5-il]tieno[3,2-c]piridina.

Etapa i: Ácido tieno[3,2-c]piridin-2-il borónico. Se evacuó un matraz de tres bocas equipado con un termómetro interno que contiene tieno[3,2-c]piridina (5,0 g, 37 mmol, 1 equivalente) y a continuación se llenó con una atmósfera de gas nitrógeno. Se añadió THF (60 mL) y la disolución se enfrió hasta -44°C (CH_3CN /hielo seco). Se añadió n-butillitio (1,6M/hexano, 25 mL, 41 mmol, 1,1 equivalentes) a lo largo de 10 minutos, manteniendo la temperatura interna a -33°C o por debajo. La reacción se agitó a entre -33°C y -45°C durante 60 minutos. Se añadió triisopropil borato (10,2 mL, 44 mmol, 1,2 equivalentes) y se retiró el baño de enfriamiento. Se dejó que la reacción evolucionara durante 105 minutos. Entonces se añadieron 3,0 mL de ácido fosfórico (al 85% en agua, 3,0 mL, 44 mmol, 1,2 equivalentes). Se formó un sólido amarillo, que se diluyó con agua y Et_2O (aproximadamente 150 mL de cada uno). Se recolectó un sólido amarillo por filtración y se secó por succión durante una noche (5,05 g). Datos analíticos: RMN de ^1H (400 MHz, *METHANOL-d*₄) δ 7,95 (1 H, s), 8,09 (1 H, d, $J=5,9$ Hz), 8,34 (1 H, d, $J=6,1$ Hz),

9,09 (1 H, s). MS (APCI, M+1) 180,1. Microanálisis para C₇H₆BNSO₂H₃PO₄: calculado C, 30,35; H, 3,27; N, 5,06; P, 11,18. Experimental: C, 41,12; H, 3,19; N, 6,53; P, 0,68%.

5 Etapa ii. 3-metil-1-(6-metilpiridin-2-il)-1H-pirazol-5-ol. Se combinó acetoacetato de etilo (10 mL, 78 mmol) y (6-metilpiridin-2-il)-hidracina (10,1 g, 82 mmol) en 100 mL de ácido acético. La reacción se calentó a 80°C durante 4 horas y 15 minutos. La reacción se enfrió hasta temperatura ambiente. Se eliminó el disolvente en un rotavapor para producir un residuo oscuro, que se disolvió en EtOAc. La disolución se lavó dos veces con NaHCO₃ saturado, a continuación una vez con agua y entonces una vez con salmuera. Se formó un sólido marrón rojizo en la fase bifásica. La mezcla bifásica se filtró, recolectando el sólido. El sólido se lavó con Et₂O para proporcionar un primer sólido (6,02 g). Las capas del filtrado se separaron usando un embudo decantador. La capa orgánica se secó sobre MgSO₄. El material se filtró y se concentró mediante rotavapor. El sólido marrón resultante se trituró con Et₂O y se sometió a filtración para proporcionar un segundo sólido (1,98 g) y un primer filtrado. De dicho filtrado precipitó un sólido, que fue recogido vertiendo el filtrado en otro filtro para proporcionar 1,69 g de un tercer sólido. El primer filtrado y los 1,98 g (segundo sólido) fueron concentrados hasta sequedad. El sólido resultante se disolvió en EtOAc caliente y se añadieron hexanos hasta que la turbidez persistió. Se dejó que la disolución reposara durante una noche. Mediante filtración se aisló un sólido muy oscuro que se sometió a cromatografía en columna (Biotage Horizon System, columna Analogix de 35 g, EtOAc al 30%/hexano). Se aisló un sólido amarillo que se disolvió en EtOAc caliente y se añadieron hexanos hasta que la turbidez persistió. Se dejó reposar la disolución durante una noche. El licor madre fue decantado y el sólido se secó en un horno a 50°C a vacío durante varias horas para producir un cuarto sólido. El primer sólido (6,02 g), el tercer sólido (1,69 g) y el cuarto sólido (4,03 g) fueron combinados para producir 11,74 g del compuesto del título.

25 Etapa iii. Trifluorometanosulfonato de 3-metil-1-(6-metilpiridin-2-il)-1H-pirazol-5-ilo. Se enfrió una mezcla de 3-metil-1-(6-metilpiridin-2-il)-1H-pirazol-5-ol (10,0 g en CH₂Cl₂ (100 mL) y Et₃N (trietilamina) (8,1 mL)) a -70°C. Se añadió anhídrido triflico (9,8 mL) a lo largo de 10 minutos, manteniendo la temperatura por debajo de -50°C. La suspensión de reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se convirtió en una disolución. La disolución se concentró para eliminar la mayor parte del CH₂Cl₂. La disolución se cargó directamente en un Analogix SuperFlash SF65-400; usando un recolector de fracciones automático Biotage; EtOAc/hexanos (20/80). Se aislaron las fracciones que contenían un líquido incoloro (9,46 g).

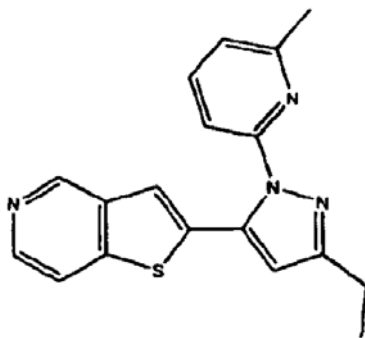
30 Etapa iv. 2-[3-metil-1-(6-metilpiridin-2-il)-1H-pirazol-5-il]tieno[3,2-c]piridina. En un matraz de fondo redondo de tres bocas de 100 mL equipado con un condensador de reflujo se añadió trifluorometanosulfonato de 3-metil-1-(6-metilpiridin-2-il)-1H-pirazol-5-ilo (1,16 g), ácido tieno[3,2-c]piridin-2-ilborónico (1,0 g), fosfato potásico tribásico (2,3 g) y 30 mL de dioxano. El matraz fue evacuado a vacío y la suspensión burbujeada con gas nitrógeno. A ésta se añadió PdCl₂(dppf) (Strem, aducto de dicloro[1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]paladio (II) diclorometano, 0,60 g). El matraz fue evacuado de nuevo a vacío y la suspensión burbujeada con gas nitrógeno. La reacción se calentó a 100°C y se dejó reaccionando durante una noche. La reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y se filtró a través de un filtro de Celite, eluyendo con EtOAc (aprox. 600 mL). El filtrado de EtOAc se concentró hasta sequedad en un rotavapor. El residuo se diluyó con CH₂Cl₂ y se separó por filtración un sólido beige. El filtrado de CH₂Cl₂ se purificó mediante cromatografía de columna (Biotage Horizon System, columna Analogix de 34 g, EtOAc al 0-100%/hep, mantener en EtOAc al 100% seguido de MeOH al 10%/EtOAc). Las fracciones que contenían el producto deseado fueron combinadas y concentradas en un rotavapor para producir un aceite oscuro.

40 El aceite oscuro (aproximadamente 800 mg) fue sometido a cromatografía de columna preparativa en una columna C-18 Gemini de Phenomenex (150x19 mm, 5 µM; Fase Móvil A: Agua (+0,1% de NH₄OH), B: CH₃CN (+0,1% de NH₄OH); Gradiente: 90-10% de A en 10 minutos, mantener en 90% de A durante 1,5 minutos; Caudal: 28 mL/min; Volumen de Inyección: 2 mL; Detección: DAD 210-350 nm, MS APCI⁺, MS APCI⁻).

45 Las fracciones deseadas fueron secadas en un rotavapor. El sólido se disolvió en EtOH caliente y a continuación se añadieron 2-5 mL de heptano. Tras dejar reposar, se filtró el material.

El filtrado se concentró hasta sequedad. Se añadió dietiléter y la disolución se filtró en un embudo de vidrio esmerilado. Se usó dietiléter adicional para lavar el material hasta que quedó <10 mg de sólido marrón en el embudo de vidrio esmerilado. El filtrado se concentró hasta sequedad dando lugar a un sólido blanquecino.

50 El sólido blanquecino se disolvió en EtOH caliente (aproximadamente 1-2 mL) y se diluyó con heptano hasta que la turbidez persistió, y se dejó reposar. Entonces comenzaron a precipitar agujas (de color amarillo claro) en la disolución. Después de aproximadamente 3 horas, los licores madre fueron decantados en otro matraz. Las agujas fueron secadas en un horno de vacío a 40°C durante más de 48 horas para producir 65 mg de un sólido blanco. P.f. 131-132°C.



Ejemplo 3. 2-[3-etil-1-(6-metilpiridin-2-il)-1H-pirazol-5-il]tieno[3,2-c]piridina.

Etapa i: 5-etil-2-(6-metil-piridin-2-il)-2H-pirazol-3-ol. Se calentó una mezcla en agitación de (6-metil-piridin-2-il)-hidracina (10,0 g) y etil propionil acetato (12 mL) en ácido acético glacial (100 mL) a 80°C durante cinco horas. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida y el evaporado fue tratado con bicarbonato sódico acuoso saturado (200 mL). La mezcla fue extraída con acetato de etilo (200 mL). La fase orgánica se lavó con una porción nueva de bicarbonato sódico acuoso saturado (200 mL), agua (200 mL) y disolución salina (200 mL). La fase orgánica fue secada posteriormente sobre sulfato sódico anhidro y se concentró a presión reducida. El evaporado se purificó mediante cromatografía flash de columna de gel de sílice. La elución a través de un cartucho de sílice (Analogix, 400 g) con un gradiente (100 % de hexanos a 60% de acetato de etilo en hexanos) dio lugar a un aceite. El aceite fue reconstituido en cloroformo y la disolución se concentró a presión reducida para dar lugar al compuesto del título en forma de aceite (7,2 g); RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 13,07 (s ancho, 1H), 7,70 (m, 1H), 7,64 (d, 1H, $J=8,2$ Hz), 6,92 (d, 1H, $J=7,4$ Hz), 5,42 (s, 1H), 2,59 (cuarteto, 2H, $J=7,6$ Hz), 2,51 (s, 3H), 1,24 (t, 3H, $J=7,6$ Hz); RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 13,5; 22,7; 23,8; 86,8; 108,8; 119,2; 140,2; 154,3; 155,0; 157,2. MS (APCI $^+$) 204 (MH $^+$).

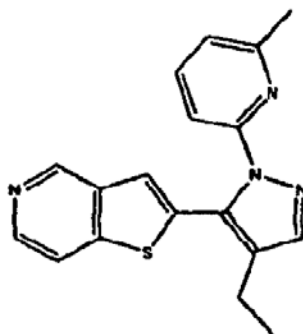
Etapa ii: Éster de 5-etil-2-(6-metil-piridin-2-il)-2H-pirazol-3-ilo de ácido trifluoro-metanosulfónico. A una mezcla agitada de 5-etil-2-(6-metil-piridin-2-il)-2H-pirazol-3-ol (7,1 g) y trietilamina (5,4 mL) en diclorometano (75 mL) a -78°C en atmósfera de nitrógeno se le añadió anhídrido trifluorometanosulfónico (6,5 mL) a lo largo de 5 minutos. Se retiró el baño frío y se dejó que la mezcla de reacción se calentara hasta temperatura ambiente y se agitó durante una noche. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida y el concentrado se purificó mediante cromatografía flash de columna de gel de sílice. La elución a través de un cartucho de sílice (Analogix SuperFlash SF65-400) con un gradiente (100 % de hexanos a 35 % de acetato de etilo en hexanos en 2400 mL) dio lugar al compuesto del título en forma de aceite (10,38 g) tras tratamiento con cloroformo; RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7,69 (m, 1H), 7,59 (dd, 1H, $J=8,2$, 0,6 Hz), 7,07 (dd, 1H, $J=7,6$, 0,4 Hz), 6,10 (s, 1H), 2,68 (cuarteto, 2H, $J=7,6$ Hz), 2,57 (s, 3H), 1,28 (t, 3H, $J=7,6$ Hz); RMN de ^{19}F (376 MHz, CDCl_3) δ -73,9 (s); MS (APCI $^+$) 336 (MH $^+$), 204 (MH $^+$ -SO $_2$ CF $_3$).

Etapa iii: 2-[3-etil-1-(6-metil)piridin-2-il)-1H-pirazol-5-il]tieno[3,2-c]piridina. En un matraz de fondo redondo de tres bocas equipado con un condensador de reflujo se añadió trifluorometanosulfonato de 3-etil-1-(6-metilpiridin-2-il)-1H-pirazol-5-ilo (1,21 g), ácido tieno[3,2-c]piridin-2-ilborónico (1,0 g), fosfato potásico tribásico (2,3 g) y 30 mL de dioxano. El matraz se evacuó a vacío y la suspensión se burbujeó con gas nitrógeno. A ésta se añadió PdCl $_2$ (dppf) (Strem, aducto de dicloro[1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]paladio (II) diclorometano, 0,60 g). Nuevamente, el matraz se evacuó a vacío y la suspensión se burbujeó con gas nitrógeno. La reacción se calentó a 100°C y se dejó que evolucionara durante una noche. La reacción se enfrió hasta temperatura ambiente. A continuación la reacción se filtró a través de Celite, aclarando bien con EtOAc. El filtrado se concentró en un rotavapor y el material aceitoso oscuro se diluyó con CH $_2$ Cl $_2$. Se obtuvo por filtración del CH $_2$ Cl $_2$ un sólido blanquecino. El filtrado se cargó en una columna (Biotage Horizon System, columna Analogix de 34 g, heptano 0-100%/EtOAc, manteniendo a continuación a 100% de EtOAc). Las fracciones deseadas fueron recogidas para producir un aceite oscuro (aproximadamente 900 mg). Las fracciones fueron sometidas a cromatografía en una columna C-18 Gemini de Phenomenex como se ha descrito anteriormente en el Ejemplo 2.

Las fracciones deseadas fueron combinadas y secadas en un rotavapor para proporcionar una muestra sólida. La muestra sólida se disolvió en EtOH caliente. La disolución se concentró hasta sequedad en un rotavapor para obtener un residuo oscuro. El residuo se secó en un horno a vacío a 45°C durante 2 horas. El material resultante era en parte aceite oscuro y en parte sólido. Se añadió dietiléter y el material se filtró para producir un sólido marrón oscuro, y un filtrado de color amarillo anaranjado claro. El filtrado se concentró hasta sequedad para obtener un sólido tostado (231 mg).

Se añadió dietiléter al sólido tostado. El material se filtró a través de papel de filtro acanalado, dejando un residuo marrón sobre el papel de filtro. El filtrado se concentró hasta sequedad en el rotavapor. Los sólidos resultantes se disolvieron de nuevo en EtOH caliente (1-2 mL) y se diluyeron con heptano hasta que la turbidez persistió. Tras 2

horas de reposo, no se observó ningún precipitado. A continuación el líquido se concentró hasta sequedad. En el rotavapor, cuando el líquido se había reducido hasta aproximadamente la mitad del volumen original, se observó la formación de un sólido marrón. El líquido se eliminó del rotavapor y la disolución comenzó a presentar una turbidez blanca. El líquido se filtró en otro matraz usando papel de filtro para retirar el sólido marrón. En el filtrado comenzó a precipitar un sólido blanco. Después de aproximadamente 15 minutos, no se observó más precipitación y el material se filtró para obtener un sólido. El sólido se secó en un horno a vacío a 40°C durante aproximadamente 48 horas para proporcionar 71 mg. P.f. 89-90°C.



Ejemplo 4. 2-[4-etil-1-(6-metilpiridin-2-il)-1H-pirazol-5-il]tieno[3,2-c]piridina.

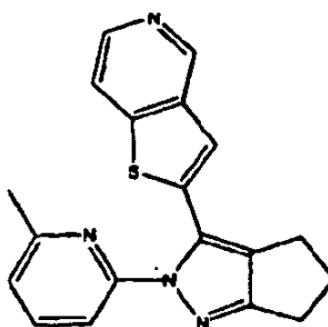
10 Etapa i: 4-etil-1-(6-metilpiridin-2-il)-1H-pirazol-5-ol. Se agitó a temperatura ambiente una suspensión de KOMe (14,0 g) y butirato de etilo (19,8 mL) en DMF (15 mL). Se añadió formato de etilo (8,1 mL) a lo largo de 15 minutos, lo que dio como resultado una abundante generación de espumas. Se añadió una disolución de 1-(6-metilpiridin-2-il)hidracina (12,3 g), MeOH (35 mL) y HOAc (5,7 mL) a lo largo de 20 minutos. La reacción era exotérmica y alcanzó una temperatura de 30°C después de una adición inicial. Se usó un baño de agua-hielo para mantener la reacción por debajo de 20°C durante el resto de la adición de la disolución. La reacción se calentó a reflujo durante 3 horas y a continuación se agitó a temperatura ambiente durante aproximadamente 48 horas. La reacción se enfrió a 10°C con un baño de agua-hielo. Se ajustó el pH a aproximadamente 7 con HOAc (10 mL) para obtener una masa espesa no agitable. La reacción se diluyó con H₂O (100 mL) para dar como resultado una disolución roja oscura. La disolución se extrajo con EtOAc (200 mL). La fase orgánica se lavó con H₂O (2 x 100 mL), se secó (MgSO₄) y SiO₂ (30 mL), y se filtró a través de SiO₂ (30 mL). El material se concentró para proporcionar 10,50 g de un aceite marrón oscuro. El aceite se sometió a cromatografía usando un Analogix SuperFlash SF65-400 y un colector de fracciones automático Biotage; EtOAc/hexanos (40/60). Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron para dar lugar a 6,40 g de un líquido naranja amarillento.

25 Etapa ii: Trifluorometanosulfonato de 4-etil-1-(6-metilpiridin-2-il)-1H-pirazol-5-ilo. Se enfrió una disolución de 4-etil-1-(6-metilpiridin-2-il)-1H-pirazol-5-ol (6,40 g) en CH₂Cl₂ (65 mL) y Et₃N (4,8 mL) a -70°C. Se añadió anhídrido triflico (Tf₂O) (5,83 mL) a lo largo de 10 minutos manteniendo la temperatura por debajo de -50°C y entonces se calentó a temperatura ambiente. La reacción se enfrió a continuación hasta menos de -50°C y se añadió una porción adicional de Tf₂O (1,1 mL; 20%) y Et₃N (1,0 mL; 20%). Después de una hora de incubación, la reacción se concentró para eliminar la mayor parte del CH₂Cl₂. La reacción se cargó directamente en un Analogix SuperFlash SF40-150; usando un recolector de fracciones automático Horizon; EtOAc/heptano (20/80). La columna se lavó con EtOAc/heptano (30/70). Las fracciones que contenían el producto deseado fueron recolectadas para proporcionar 6,98 g en forma de un líquido amarillo pálido.

35 Etapa iii: 2-[4-etil-1-(6-metilpiridin-2-il)-1H-pirazol-5-il]tieno[3,2-c]piridina. En un matraz de fondo redondo de tres bocas de 100 mL equipado con un condensador de reflujo se añadió trifluorometanosulfonato de 4-etil-1-(6-metilpiridin-2-il)-1H-pirazol-5-ilo (1,2 g), ácido tieno[3,2-c]piridin-2-ilborónico (1,2 g), fosfato potásico tribásico (2,3 g) y 30 mL de dioxano. El matraz se evacuó a vacío y la suspensión se burbujeó con gas nitrógeno. A ésta se añadió PdCl₂(dppf) (Strem, aducto de dicloro[1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]paladio (II) diclorometano, 0,60 g). El matraz se evacuó de nuevo a vacío y la suspensión se burbujeó con gas nitrógeno. La reacción se calentó a 100°C durante una noche. A continuación se añadieron 0,295 g de PdCl₂(dppf) (Strem, aducto de dicloro[1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]paladio (II) diclorometano) y la reacción continuó durante 4 horas y 15 minutos. La reacción se enfrió hasta temperatura ambiente.

45 El contenido de la reacción se filtró a través de Celite aclarando bien con EtOAc hasta que el producto deseado había eluído. El filtrado se concentró hasta sequedad en un rotavapor para formar un residuo oscuro. El residuo oscuro fue procesado en CH₂Cl₂ y los sólidos se retiraron por filtración. El filtrado resultante fue reducido mediante concentración en un rotavapor antes de cargar el material en una columna (Biotage Horizon System, EtOAc al 0-100% en 700 mL, a continuación mantener a 100% de EtOAc, 500 mL). Los tubos con una mayor cantidad de producto evidente presentaron un sólido blanco en las paredes del matraz.

Los tubos que contenían el producto deseado se concentraron en rotavapor para dar lugar a un aceite oscuro. El aceite oscuro fue triturado con Et₂O y el sólido se retiró mediante filtración. El precipitado sólido adicional se aisló del filtrado y se combinó con el sólido procedente de la filtración original. Los sólidos combinados se disolvieron en EtOH caliente (aproximadamente 2 mL). Se añadió heptano hasta que comenzó a formarse un precipitado. A continuación se formó un sólido oscuro. Tras aproximadamente 10 minutos, pareció que el sólido había terminado de precipitar. La mezcla se filtró a través del filtro de papel en otro matraz. El filtrado se diluyó con más heptano hasta que la turbidez persistió. Se dejó reposar el filtrado durante una noche a temperatura ambiente. En el matraz se formaron agujas blancas con un residuo oscuro en el fondo del matraz. El contenido del matraz se concentró hasta sequedad en un rotavapor y se disolvió en 1-2 mL de EtOH caliente, se filtró a través de papel de filtro y se diluyó con heptano hasta que la turbidez persistió. Se dejó que el matraz reposara durante 2 horas. A continuación la mezcla se colocó en un rotavapor para reducir el volumen de material. En el rotavapor, cuando quedaba aproximadamente la mitad del volumen original, comenzó a observarse un sólido marrón. El matraz se retiró del rotavapor y se filtró en otro matraz usando papel de filtro para eliminar un sólido marrón. Comenzó a precipitar un sólido blanco en el filtrado. El sólido blanco fue recolectado por filtración y secado en un horno a vacío a 40°C durante más de 48 horas para obtener 85 mg del compuesto del título.



Ejemplo 5. 2-(2-(6-metilpiridin-2-il)-2,4,5,6-tetrahidrociclopenta[c]pirazol-3-il)tieno[3,2-c]piridina.

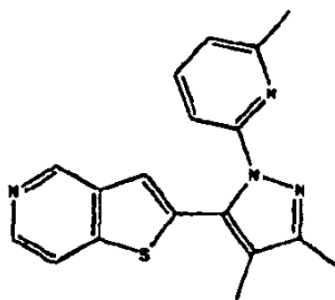
Etapa i: Ácido tieno[3,2-c]piridin-2-borónico. A una mezcla agitada que consistía en tieno[3,2-c]piridina (2,0 g) en tetrahidrofurano anhidro (25 mL) a -40°C se le añadió una disolución que consistía en n-butillitio 1,6 M en hexanos 810 mL) a lo largo de varios minutos (gota a gota al principio, seguido de una corriente lenta, continua). La mezcla de reacción se agitó durante cinco minutos y posteriormente se añadió borato de triisopropilo (4,2 mL). Se retiró el baño frío y se dejó que la mezcla se agitara durante una hora. Se añadió agua (2 mL) a la mezcla de reacción, lo que provocó que precipitara instantáneamente un sólido amarillo pálido. El precipitado se recolectó mediante filtración a vacío y los sólidos fueron aclarados ligeramente con agua (dando lugar a un filtrado amarillo turbio) y posteriormente con dietil éter (dando lugar a un filtrado naranja oscuro). La porción acuosa del filtrado se separó del disolvente orgánico, y a continuación se diluyó con 1,4-dioxano (100 mL) y la disolución se concentró a presión reducida. La adición de 1,4-dioxano (100 mL) al concentrado y la posterior concentración a presión reducida se repitió dos veces para dar lugar a un polvo amarillo (0,8 g) tras la evaporación final.

Etapa ii: Éster etílico de ácido 2-[(6-metil-piridin-2-il)-hidrazono]-ciclopentanocarboxílico. Se calentó una disolución de 2-oxociclopentanocarboxilato de etilo (6,34 g, 5,88 mL) y (6-metil-piridin-2-il)-hidrazina (5 g) en etanol (100 mL) a 80°C en atmósfera de nitrógeno durante aproximadamente 19 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y el disolvente se retiró a vacío para proporcionar un material sin purificar (7,72 g), que se llevó directamente a la siguiente reacción.

Etapa iii: 2-(6-metil-piridin-2-il)-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-ol. Se concentró a presión reducida una disolución de éster etílico de ácido 2-[(6-metil-piridin-2-il)-hidrazono]-ciclopentanocarboxílico (6,6 g) y metóxido sódico (2,73 g) en metanol (250 mL), casi hasta sequedad, para proporcionar una pasta marrón. Esta pasta se calentó a continuación a 160 °C durante 2 horas, teniendo cuidado de evitar un exceso de formación de burbujas. Tras 2 horas la reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y se añadió agua (100 mL). El pH se ajustó a 7 con HCl 1 N, a continuación se añadió acetato de etilo (200 mL) y la mezcla resultante se agitó hasta que se produjo la disolución del precipitado. Las capas se separaron y la capa acuosa se lavó con otra porción de acetato de etilo (100 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (200 mL) y salmuera (200 mL) y se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron a vacío para proporcionar el producto (3,6 g) para uso sin ninguna purificación adicional.

Alternativamente: la misma reacción se puede llevar a cabo a una menor temperatura de 125 °C comenzando con 21,0 g de éster etílico de ácido 2-[(6-metil-piridin-2-il)-hidrazono]-ciclopentanocarboxílico para proporcionar 17,3 g de producto sin purificar.

- Etapa iv: Éster de 2-(8-metil-piridin-2-il)-2,4,5,6-tetrahidrociclopentapirazol-3-ilo de ácido trifluoro-metanosulfónico. A un matraz de fondo redondo secado en horno se añadió 2-(6-metil-piridin-2-il)-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-ol (17,3 g) y trietilamina (9,76 g, 13,44 mL) en diclorometano (350 mL) y la mezcla de reacción se enfrió a -78°C. A ésta se añadió anhídrido trifluorometano sulfónico (16,23 mL) a través de un embudo igualador de presión a lo largo de 10 minutos. La mezcla resultante se agitó a -78°C durante 1 hora y a continuación se dejó calentar hasta temperatura ambiente y se agitó durante otra hora adicional. El disolvente se eliminó a vacío para proporcionar un precipitado marrón. El precipitado marrón se purificó mediante cromatografía flash de gel de sílice (hexanos al 60%/acetato de etilo al 40%) para proporcionar un sólido blanquecino (8,848 g) seguido de otro lote de material (12,2 g) de material ligeramente menos puro.
- Etapa iv: 2-(2-(6-metilpiridin-2-il)-2,4,5,6-tetrahidrociclopenta[c]pirazol-3-il)tieno[3,2-c]piridina. Se cargó un matraz de fondo redondo de tres bocas secado en horno equipado con condensador de reflujo y válvula de entrada para gas con ácido tieno[3,2-c]piridin-2-borónico (0,7 g). El matraz se evacuó y se purgó con gas nitrógeno tres veces. El contenido del matraz se mantuvo en atmósfera de nitrógeno durante cuatro días. Al matraz de reacción se añadió éster de 2-(6-metil-piridin-2-il)-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-ilo de ácido trifluoro-metanosulfónico (0,7 g), fosfato potásico tribásico (2,5 g) y 1,4-dioxano (30 mL). El matraz se evacuó y se purgó con nitrógeno tres veces más. Se añadió aducto de dicloro[1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]paladio (II) diclorometano (0,65 g) y 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno (0,43 g) y la mezcla se desgasificó y se purgó con nitrógeno tres veces más. La mezcla de reacción se llevó a reflujo durante una noche. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo (250 mL) y la disolución se trató con carbón activado y se filtró a través de Celite.
- El filtrado resultante se concentró a presión reducida y el concentrado se purificó en un cartucho de sílice flash RediSep en el sistema Biotage con 100% de hexanos a 100% de acetato de etilo sobre 1800 mL seguido de 100% de acetato de etilo hasta que el material deseado se eluyó. El material deseado fue un residuo oscuro. Un líquido oscuro se separó de un sólido que se adhirió a las paredes del matraz. El líquido se eliminó con etanol absoluto extrayendo con una pipeta y la disolución oscura se evaporó durante una noche para obtener un residuo viscoso oscuro. El material se disolvió en acetonitrilo (15 mL) y se purificó mediante HPLC preparativa (sistema de HPLC preparativa de Waters; fase estacionaria: Waters DeltPak C18 5 µm, 100 Angstrom, 300x50 mm D.I., P/N 011801, WAT 011801, N° 330C09125W; fase móvil de 80:20 a 40:60 de agua-acetonitrilo con 0,1% de ácido fórmico a lo largo de 30 minutos). Las fracciones combinadas fueron combinadas y concentradas a presión reducida para dar lugar a una disolución acuosa transparente incolora. La disolución fue tratada con carbonato potásico acuoso saturado para dar lugar a una suspensión lechosa. La extracción con una porción de dietil éter y dos porciones de acetato de etilo, el secado de los extractos combinados sobre carbonato potásico anhidro y la concentración a presión reducida dieron lugar a una película que comenzó a solidificarse con el tiempo. La película se disolvió en etanol absoluto y se concentró a presión reducida para producir un aceite amarillo claro que solidificó con el tiempo. El material fue sometido a alto vacío a temperatura ambiente para producir el compuesto del título como un sólido amarillo claro (21 mg); punto de fusión: el sólido forma morfós a 121-126 °C, se funde a 146-148 °C.

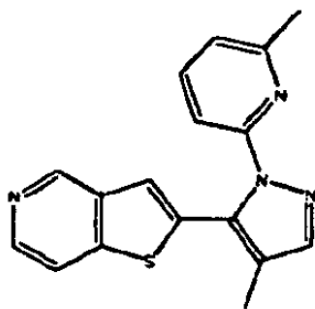


Ejemplo 6. 2-[3,4-dimetil-1-(6-metilpiridin-2-il)-1H-pirazol-5-il][3,2-c]piridina.

- Etapa i. 3,4-dimetil-1-(6-metilpiridin-2-il)-1H-pirazol-5-ol. A un matraz de fondo redondo de 250 mL se añadió etil 2-metil acetoacetato (5,0 g, 35 mmol), 1-(6-metilpiridin-2-il)hidracina (4,48 g, 36 mmol) y 12 mL de ácido acético. La mezcla se calentó a 80°C durante 9 horas. Se añadió agua y EtOAc a la mezcla. Las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua y salmuera, se secaron (MgSO₄), se filtraron y se concentraron a vacío (6,68 g).
- Etapa ii. Trifluorometanosulfonato de 3,4-dimetil-1-(6-metilpiridin-2-il)-1H-pirazol-5-ilo. Al matraz de fondo redondo de 500 mL con 3,4-dimetil-1-(6-metilpiridin-2-il)-1H-pirazol-5-ol (6,68 g, 33 mmol) se añadió Et₃N (5,5 mL, 39 mmol) y 35 mL de CH₂Cl₂. La disolución se enfrió en un baño de hielo seco y acetona. Se añadió lentamente Tf₂O (6,1 mL, 36 mmol). La mezcla se agitó a -78°C y se dejó calentar hasta temperatura ambiente. A continuación la mezcla se concentró a vacío. El producto sin purificar se purificó usando un sistema Biotage Horizon (de 0 a 25% de EtOAc/hexano) para producir un aceite incoloro (8,28 g).

Etapa iii: 2-[3,4-dimetil-1-(6-metilpiridin-2-il)-1H-pirazol-5-il]tieno[3,2-c]piridina. En un matraz de fondo redondo de tres bocas de 100 mL equipado con un condensador de reflujo se añadió trifluorometanosulfonato de 3,4-dimetil-1-(6-metilpiridin-2-il)-1H-pirazol-5-ilo (0,90 g, 2,7 mmol, 1,2 equivalentes), trihidrógeno fosfato de ácido tieno[3,2-c]piridin-2-ilborónico (0,72 g, 2,6 mmol, 1 equivalente), fosfato potásico tribásico y 20 mL de dioxano. El matraz se evacuó a vacío y la suspensión se burbujeó con gas nitrógeno. A ésta se añadió PdCl₂(dppf) (Strem, aducto de dicloro[1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]paladio (II) diclorometano, 0,54 g, 0,65 mmol, 0,3 equivalentes). Nuevamente, el matraz se evacuó a vacío y la suspensión se burbujeó con gas nitrógeno. La reacción se calentó a 100°C durante 16 horas y a continuación se enfrió hasta temperatura ambiente.

La reacción se filtró a través de Celite, se aclaró bien con EtOAc hasta que todo el material deseado eluyó (aproximadamente 400 mL). El filtrado de EtOAc se concentró hasta un residuo oscuro. El residuo oscuro se procesó en CH₂Cl₂ y los sólidos se retiraron por filtración. El CH₂Cl₂ fue sometido a cromatografía en columna (sistema Biotage Horizon, 0-100% de heptano/EtOAc sobre 800 mL, a continuación se mantiene a 100% de EtOAc, 500 mL). Las fracciones se concentraron en 3 porciones: la porción que contenía un aceite ligeramente coloreado (420 mg) solidificó parcialmente después de reposar durante una noche. El material se disolvió en EtOH caliente y se añadió heptano. Tras reposar durante una noche no apareció ningún sólido precipitado. El material se concentró hasta sequedad. Se añadieron aproximadamente 15 mL de Et₂O y el material se filtró a través de un filtro de papel, dejando una cantidad menor de un residuo tostado. El residuo se concentró hasta sequedad y se añadió aproximadamente 1 mL de Et₂O. Entonces se añadió aproximadamente 15 mL de heptano hasta que la mezcla permaneció turbia. No se observó ningún precipitado tras dejar en reposo a 4 °C durante aproximadamente 2 horas. A continuación se concentró el material hasta sequedad para obtener un aceite marrón. Se añadió heptano y se formaron pequeños círculos de sólido, algunos eran blanquecinos y otros marrones. El heptano se decantó y el sólido se secó en un horno a vacío a 50°C durante aproximadamente 48 horas para proporcionar 229 mg de un sólido tostado. P.f. 108-109 °C.



Ejemplo 7. 2-[4-metil-2-(6-metil-piridin-2-il)-2H-pirazol-3-il]-tieno[3,2-c]piridina.

Etapa i: Trihidrógeno fosfato de ácido tieno[3,2-c]piridina 2-borónico. A una mezcla agitada de tieno[3,2-c]piridina (2,0 g) en tetrahidrofurano anhidro (25 mL) a -40°C se le añadió una disolución de *n*-butillito 1,6 M en hexanos (10 mL) gota a gota a lo largo de cinco minutos. La mezcla de reacción se agitó durante diez minutos y posteriormente se añadió borato de triisopropilo (4,2 mL). Se retiró el baño frío y se dejó que la mezcla se agitara durante tres horas. Se añadió ácido fosfórico (disolución acuosa al 85%, 1,2 mL) a la mezcla agitada. Posteriormente se añadió agua (10 mL), lo que provocó que se precipitara instantáneamente un sólido amarillo pálido. Se añadió más agua (100 mL) y se añadió dietil éter (100 mL). La suspensión se filtró a vacío. Los sólidos fueron secados por succión para producir el compuesto del título como un polvo amarillo pálido (2,73 g); microanálisis para C₇H₆BNO₂S·H₃PO₄ %C (calculado/experimental) 30,35/31,41; %H 3,27/3,24; %N 5,06/5,04; %S 11,58/11,93; %P 11,18/8,58; RMN de ¹H (400 MHz, mezcla de DMSO-d₆, CDCl₃, CD₃OD, D₂O) δ 9,01 (d, 1H, J=1,0 Hz), 8,26 (d, 1H, J=6,0 Hz), 7,94 (s, 1H), 7,91-7,83 (m, 1H); MS (APCI⁺) *m/z* 180 (MH⁺).

Etapa ii: 1-(6-metilpiridin-2-il)hidracina. Se llevó a reflujo una mezcla de 2-bromo-6-metil-piridina (602,10 g) e hidrato de hidracina (1570 mL) a 120°C durante 6 horas, y a continuación se agitó a temperatura ambiente durante aproximadamente 48 horas. El sólido separado se extrajo con dietiléter (3 x 1,5 L) y los extractos de éter combinados fueron lavados con salmuera, secados sobre Na₂SO₄, filtrados y concentrados (~430 g). El residuo se agitó en una mezcla de éter (200 mL) y hexano (1,5 L), se filtró y se lavó con dietiléter al 5% en hexano para dar lugar a un sólido amarillo claro (pegajoso). El sólido se destiló a vacío a 106-113°C/2mm, que se solidificó instantáneamente. A continuación el sólido se disolvió en 2L de dietiléter y se precipitó añadiendo 2L de hexano, se filtró y se secó a vacío para producir 1-(6-metilpiridin-2-il)-hidracina en forma de sólido blanco (240 g).

Alternativamente, también se sintetizó 1-(6-metilpiridin-2-il)-hidracina como se indica a continuación:

Un matraz de reacción encamisado fue equipado con un agitador mecánico, entrada de nitrógeno y condensador de reflujo, y la camisa se enfrió a 10°C. El reactor se programó para enfriarse automáticamente a 0°C si la temperatura

interna excedía en cualquier punto los 80°C. El reactor se purgó con una corriente estacionaria de gas nitrógeno. Al reactor se cargaron 25 g (0,225 mol) de 2-fluoro-6-metilpiridina seguidos de 100 mL de isopropanol, y la temperatura de la camisa se ajustó a 73°C (correspondientes a una temperatura interna de 70°C). Se cargaron al reactor 44 g (0,90 mol) de hidracina acuosa al 65% y la mezcla se agitó durante una noche con la camisa fijada a 70°C. El contenido del reactor se diluyó con 125 mL de metil t-butil éter (MTBE) y 13 mL de salmuera saturada para dar lugar a dos capas que se separaron. La capa acuosa fue extraída con 2x60 mL de MTBE. Las capas orgánicas se combinaron y se secaron sobre sulfato sódico (anhidro). El agente de secado se eliminó por filtración y el filtrado orgánico se concentró mediante rotavapor. El aceite resultante solidificó al reposar para dar lugar al producto deseado (21,1 g) en forma de sólido blanco.

Etapa iii: 4-metil-2-(6-metil-piridin-2-il)-2H-pirazol-3-ol. A una mezcla agitada de metóxido sódico (13,6 g) en tetrahidrofurano anhidro (50 mL) en atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente en un recipiente de reacción de tres bocas de 500 mL secado en horno se le añadió formato de metilo anhidro (12,6 mL). La mezcla evolución y a la suspensión se añadió formato de etilo (28,7 mL) con una corriente estacionaria lenta a través de una jeringa a la vez que se balanceaba el recipiente de reacción a mano para facilitar una mezcla más eficiente de la suspensión. La mezcla subsiguiente fue agitada a temperatura ambiente durante cinco horas. Se añadió ácido acético glacial (14 mL) mientras se balanceaba el recipiente de reacción vigorosamente a mano durante varios minutos para facilitar una mezcla más eficiente. La suspensión resultante se agitó durante una noche y se filtró a través de Celite. El filtro de Celite se lavó dos veces con dietil éter (2 x 200 mL) y se succionó. El filtrado produjo un precipitado sólido blanco escaso que fue retirado mediante una filtración a vacío adicional a través de un embudo Buchner esmerilado medio. El filtrado resultante se concentró a presión reducida (temperatura del baño de agua = 45°C) para producir un aceite transparente ligeramente coloreado (aproximadamente 15 g). El aceite poseía el olor característico del ácido acético. El aceite se disolvió en etanol absoluto (50 mL). A esta disolución se añadió (6-metil-piridin-2-il)-hidracina sólida (5,4 g). La mezcla agitada se llevó a un reflujo suave en atmósfera de nitrógeno durante cuatro días. La mezcla se concentró a presión reducida y el aceite naranja producido se disolvió en diclorometano (50 mL). La disolución de diclorometano se aplicó a un cartucho de sílice flash Analogix de 400 g en un instrumento Biotage. La elución en el instrumento de Biotage con un gradiente (100% de heptano a 70% de acetato de etilo en heptano a lo largo de cuatro volúmenes de columna, o 2400 mL). Las fracciones se secaron para producir un sólido (7,1 g).

Alternativamente, también se produjo 4-metil-2-(6-metil-piridin-2-il)-2H-pirazol-3-ol como se indica a continuación: a una disolución de formato de etilo (117,5 g) y propionato de etilo (54,0 g) en 40 mL de tetrahidrofurano (THF) se añadió, gota a gota, t-butoxido potásico (502 mL de una disolución 1,0 molar en THF) a temperatura ambiente a lo largo de aproximadamente 0,5 horas. Comenzó a formarse un precipitado blanco junto con la aparición de algo de burbujeo. Tras otras 7,5 horas la reacción se filtró, se lavó el sólido con dietil éter y a continuación se secó a vacío a 40°C durante 16 horas para producir 2-etoxicarbonil-propen-1-olato de potasio en forma de un polvo gris (23,5 g). A una disolución de esta sal de potasio (17,6 g) en 450 mL de 1-propanol se añadió (6-metil-piridin-2-il)-hidracina (11,7 g) seguida de ácido acético (6,5 mL). Tras agitar durante 10 minutos, la mezcla se calentó con reflujo suave durante 5 horas. Se añadió más ácido acético (5,5 mL) y el reflujo continuó durante otras 16 horas.

El disolvente se eliminó a vacío. El residuo resultante se diluyó con acetato de etilo (350 mL) y la disolución se lavó cuidadosamente con disolución de bicarbonato sódico saturado (200 mL) hasta que se neutralizó el ácido acético restante. Las fases se separaron y la fase acuosa fue extraída con acetato de etilo (50 mL). Las fases orgánicas se combinaron y a continuación se lavaron con agua (100 mL), después con salmuera (100 mL) y se secaron sobre sulfato magnésico. El agente de secado se retiró por filtración y el disolvente se eliminó a vacío para producir el producto en forma de un sólido naranja (16,26 g).

Etapa iv: Éster de 4-metil-2-(6-metil-piridin-2-il)-2H-pirazol-3-ilo de ácido trifluoro-metanosulfónico. A una mezcla en agitación de una disolución en diclorometano de 4-metil-2-(6-metil-piridin-2-il)-2H-pirazol-3-ol (13,39 g en 50 mL de diclorometano) y trietilamina (11 mL) en diclorometano adicional (50 mL más, 100 mL de diclorometano en total) a -78°C en atmósfera de nitrógeno se le añadió anhídrido triflico (13,3 mL) con una corriente continua, lenta, a través de una jeringa a lo largo de cinco minutos. Se retiró el baño frío y se dejó que la mezcla se calentara gradualmente a lo largo de una hora, treinta minutos hasta temperatura ambiente. La mezcla se concentró a presión reducida y el concentrado se purificó mediante cromatografía flash de sílice. La elución con un gradiente (100% de heptano a 30% de acetato de etilo en heptano a lo largo de tres volúmenes de columna, o 1800 mL, a continuación de 30 % a 45% de acetato de etilo a lo largo de dos volúmenes de columna adicionales, o 1200 mL) a través de un cartucho de sílice flash Analogix de 400 g en el instrumento Biotage dio lugar al compuesto del título en forma de un aceite transparente incoloro (18,04 g). RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,68 (m, 1H), 7,59 (d, J=8,0 Hz, 1H), 7,50 (s, 1H), 7,07 (d, J=7,4 Hz, 1H), 2,56 (s, 3H), 2,07 (s, 3H); RMN de ¹⁹F (376 MHz, CDCl₃) δ -74,12 (s, 3F); RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ 157,9; 151,1; 141,3; 139,5; 139,0; 122,0; 118,6 (cuarteto, J_{C-F}=321,0 Hz); 111,9; 108,7; 23,6; 7,3; MS (APCI⁺=II) m/z 322.

Etapa v: 2-[4-metil-2-(6-metil-piridin-2-il)-2H-pirazol-3-il]-tieno[3,2-c]piridina. Un matraz de fondo redondo de tres bocas secado en horno equipado con condensador de reflujo y válvula de entrada de gas se cargó con trihidrógeno fosfato de ácido tieno[3,2-c]piridin-2-borónico (1,0 g), éster de 4-metil-2-(6-metil-piridin-2-il)-2H-pirazol-3-ilo de ácido trifluoro-metanosulfónico (1,16 g), fosfato potásico tribásico (2,3 g), 1,4-dioxano (30 mL), aducto de dicloro[1,1'-

5 bis(difenil-fosfino)ferroceno]paladio (II) diclorometano (0,60 g) y 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno (0,40 g) y la mezcla agitada se llevó a reflujo en atmósfera de nitrógeno durante 18 horas. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo (250 mL) y la disolución fue tratada con carbón activado y filtrada a través de Celite. El filtrado se concentró a presión reducida y el concentrado se purificó mediante cromatografía de gel sílice. La elución a través de un
 10 cartucho de sílice flash RediSep de 120 g en un sistema Biotage con 100% de heptano a 100% de acetato de etilo a lo largo de 1800 mL, seguido de 100% de acetato de etilo hasta que el material con la masa deseada eluye, dio lugar a un aceite (1,2 g); MS (APCI+) m/z 307 (MH^+). El producto fue purificado adicionalmente disolviéndolo en acetonitrilo (30 mL) y dividiéndolo en dos porciones iguales. Tras filtración, las disoluciones fueron purificadas secuencialmente mediante HPLC preparativa (sistema de HPLC preparativa de Waters; fase estacionaria: Waters DeltPak C18 5 μm , 100 Angstrom, 300x50 mm D.I., P/N 011801, WAT 011801. N° 330C09125W; fase móvil: de 90:10 a 50:50 agua-acetonitrilo con un 0,1% de ácido fórmico a lo largo de 30 minutos). Las fracciones combinadas fueron concentradas a presión reducida a una disolución acuosa, eliminando el acetonitrilo. La disolución acuosa transparente fue tratada con carbonato potásico acuoso saturado para proporcionar una suspensión blanca turbia.
 15 Se dejó que la suspensión reposara a temperatura ambiente durante una noche. Se recolectó el precipitado sólido blanco que se había formado mediante filtración a vacío y se secó en un horno de vacío (77°C) durante una noche para dar lugar al compuesto del título en forma de un sólido blanco (0,506 g). Punto de fusión: 157-158°C.

Los datos analíticos de RMN de 1H y de espectrometría de masas correspondientes a los Ejemplos 1-7 se presentan a continuación en la Tabla 1:

Tabla 1

Ejemplo	RMN de 1H	MS
1	RMN de 1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 9,06 (d, $J = 0,975$ Hz, 1H), 8,38 (d, $J = 5,5$ Hz, 1H), 7,98 (m, 1H), 7,91 (t, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,84 (d, $J = 1,8$ Hz, 1H), 7,66 (s, 1H), 7,50 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,35 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 6,95 (d, $J = 1,9$ Hz, 1H), 3,29 (s, 3H)	MS (APCI) m/z 293,1 ($M+H$) ⁺
2	RMN de 1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 9,08 (s, 1H), 8,40 (d, $J = 5,5$ Hz, 1H), 8,01 (dd, $J = 0,78, 5,7$ Hz, 1H), 7,89 (t, $J = 7,9$ Hz, 1H), 7,64 (s, 1H), 7,50 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,32 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H), 6,76 (s, 1H), 2,34 (s, 3H), 2,31 (s, 3H)	MS (APCI, $M+1$) 307,3
3	RMN de 1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 9,07 (s, 1H), 8,40 (d, $J = 5,7$ Hz, 1H), 8,00 (dd, $J = 0,78, 5,7$ Hz, 1H), 7,89 (t, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,65 (s, 1H), 7,50 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,32 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H), 6,81 (s, 1H), 2,68 (q, $J = 7,5$ Hz, 2H), 2,35 (s, 3H), 1,27 (t, $J = 7,6$ Hz, 3H)	MS (APCI) m/z 321,2 ($M+H$) ⁺
4	RMN de 1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 9,12 (s, 1H), 8,42 (dd, $J = 5,6, 1,3$ Hz, 1H), 8,03 (d, $J = 5,5$ Hz, 1H), 7,83 (m, 1H), 7,57 (s, 1H), 7,50 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,19 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H), 2,53 (q, bajo el pico de DMSO, 2H), 2,12 (s, 3H), 1,17 (t, $J = 7,4$ Hz, 3H)	MS (APCI) m/z 321,2 ($M+H$) ⁺
5	RMN de 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ ppm 8,99 (s, 1H), 8,41 (d, $J = 5,5$ Hz, 1H), 7,70-7,66 (m, 2H), 7,36 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,27 (d, $J = 0,5$ Hz, 1H), 7,14 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H), 2,89-2,83 (m, 4H), 2,56-2,49 (m, 2H), 2,47 (s, 3H)	MS (APCI ⁺) m/z 333 (MH^+)
6	RMN de 1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 9,11 (s, 1H), 8,41 (d, $J = 5,5$ Hz, 1H), 8,01 (d, $J = 5,5$ Hz, 1H), 7,79 (t, $J = 7,7$ Hz, 1H), 7,56 (s, 1H), 7,46 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 7,14 (d, $J = 7,4$ Hz, 1H), 2,27 (s, 3H), 2,10 (s, 3H), 2,05 (s, 3H)	MS (APCI) m/z 321,2 ($M+H$) ⁺
7	RMN de 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ ppm 9,06 (s, 1H), 8,44 (d, $J = 5,7$ Hz, 1H), 7,73 (d, $J = 5,7$ Hz, 1H), 7,65 (s, 1H), 7,62 (m, 1H), 7,37 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,31 (s, 1H), 7,04 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H), 2,27 (s, 3H), 2,18 (s, 3H)	(APCI ⁺) m/z 307 ($M+H$) ⁺

20 Ejemplo 8. 2-[4-metil-2-(6-metil-piridin-2-il)-2H-pirazol-3-il]-tieno[3,2-c]piridina.

Etapa i. 2-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-tieno[3,2-c]piridina.

25 Una disolución de tieno[3,2-c]piridina (5,0 g) en 100 mL de THF en atmósfera de N_2 se enfrió a -78°C (acetona/hielo seco). Se añadió gota a gota n-butilitio (28 mL, 1,6 M en hexanos, botella recién abierta) a lo largo de veinte minutos, manteniendo la temperatura interna a -64°C o menos. La mezcla se agitó durante una hora a -78°C y posteriormente se añadió triisopropilborato (botella recién abierta, 10,2 mL). Se retiró el baño frío, permitiendo que la mezcla se calentara hasta temperatura ambiente a lo largo de 30 minutos. La mezcla se agitó a temperatura

ambiente durante una hora. Se añadió una mezcla de pinacol (5,9 g) en dietil éter (20 mL) a la mezcla de reacción. Después de veinte minutos, se añadió ácido acético glacial (2,2 mL) y se formó un precipitado en la mezcla de reacción. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite, se aclaró con cloroformo hasta que el material activo en UV fue eluido (aproximadamente 2500 mL). El filtrado fue extraído dos veces con disolución de hidróxido sódico acuosa al 5% (aproximadamente 500 mL en total). La fase básica acuosa se mantuvo a temperatura ambiente durante una noche. La capa acuosa se enfrió en un baño de CH₃CN/hielo seco y se neutralizó con ácido clorhídrico acuoso al 10% a la vez que se mantenía la temperatura interna a 5°C o menos. La disolución acuosa neutralizada fue extraída en cloroformo diez veces. Los extractos combinados fueron secados sobre sulfato magnésico anhidro y se concentraron a presión reducida para obtener un sólido. Este producto se combinó con los productos de otras tres reacciones llevadas a cabo en la misma escala de un modo similar para producir un sólido combinado (23,52 g). El sólido combinado se disolvió en aproximadamente 1 L de etanol en ebullición. Se dejó que la disolución se enfriara hasta temperatura ambiente. Después de aproximadamente cuatro horas a temperatura ambiente, la disolución se almacenó a 4°C durante una noche. De la disolución precipitó un material de color tostado. El líquido se decantó a través de un filtro. El sólido se secó en un horno a vacío (50°C) durante una hora para dar lugar al compuesto del título (14,02 g) en forma de sólido tostado; RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃ con una gota de D₂O para disolver completamente) δ 1,39 (12 H, s), 7,89 (1 H, d, J=5,3 Hz), 7,97 (1 H, s), 8,45 (1 H, d, J=4,5 Hz), 9,18 (1 H, s); MS (APCI⁺) m/z 262.

Alternativamente, también se produjo 2-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-tieno[3,2-c]piridina como se indica a continuación. A una disolución a -70°C de tieno[3,2-c]piridina (21,6 g) en 400 mL de tetrahydrofurano seco en atmósfera de gas nitrógeno se le añadió n-butil litio (99,9 mL de disolución 1,6 molar en hexanos) a lo largo de aproximadamente 15-20 minutos manteniendo la temperatura por debajo de -65°C. La disolución se volvió turbia y marrón oscura. Tras 45 minutos se añadió borato de triisopropilo (33,06 g) y la mezcla se volvió homogénea. La mezcla se agitó a entre -70 y -75°C durante 2 horas. Se dejó que la mezcla se calentara hasta -30°C, a continuación se añadió una disolución de pinacol en 100 mL de dietil éter a lo largo de 4 minutos. La mezcla de reacción se volvió una disolución homogénea naranja. Se dejó que la temperatura se elevara hasta 5°C y se mantuvo a dicha temperatura durante 1 hora. La mezcla de reacción se neutralizó (pH 7) muy lentamente con 40 mL de ácido clorhídrico 4M en 1,4-dioxano, manteniendo la temperatura por debajo de 10°C. Se formó un precipitado. La mezcla de reacción se agitó durante 1 hora y a continuación se recolectó el sólido mediante filtración. El sólido se secó a vacío a 40°C durante 16 horas. El sólido seco (36 g) se agitó con 400 mL de agua durante 1,5 horas. La suspensión se filtró y el sólido se recolectó. El sólido se secó en una corriente de aire durante 60 horas para dar lugar al producto deseado (34,5 g). RMN de ¹H (400 MHz, cloroformo-d₆) δ ppm 1,21 (s, 12 H), 7,66-7,70 (m, 1 H), 7,80 (d, J=0,78 Hz, 1 H), 8,28 (d, J=5,65 Hz, 1 H), 8,98 (d, J=0,97 Hz, 1 H).

Etapa ii: 2-[4-metil-2-(6-metil-piridin-2-il)-2H-pirazol-3-il]-tieno[3,2-c]piridina. Un matraz de fondo redondo de tres bocas de 500 mL secado en horno equipado con condensador de reflujo y válvula de entrada de gas se cargó con 2-(4,4,5,5-tetrametil-[1,2,3]dioxaborolan-2-il)-tieno[3,2-c]piridina (11,56 g), éster de 5-etil-2-(6-metil-piridin-2-il)-2H-pirazol-3-ilo de ácido trifluorometanosulfónico (16,4 g), fosfato potásico tribásico (28 g) y 1,4-dioxano (300 mL). El recipiente de reacción se evacuó y se ventiló con gas nitrógeno. La desgasificación y el venteo de nitrógeno se repitieron dos veces. Se añadió a la mezcla aducto de dicloro[1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]paladio (II) diclorometano (7,3 g) y 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno (5,0 g) y la mezcla agitada se desgasificó y se ventó con gas nitrógeno tres veces más, y posteriormente se llevó gradualmente a un reflujo suave a lo largo de un periodo de treinta minutos. La mezcla se agitó a reflujo en atmósfera de nitrógeno durante 2,5 horas, y posteriormente se añadió fluoruro de potasio (13 g) y agua (1,2 mL). La mezcla en agitación continuó a reflujo durante quince minutos y posteriormente se enfrió ligeramente y se filtró a través de Celite. El filtro se lavó con acetato de etilo (1 L) y el filtrado se trató con carbón activado. La suspensión de carbón se filtró a través de Celite. Dicho filtro se lavó con más acetato de etilo (300 mL), y el filtrado se concentró a presión reducida para dar lugar a un residuo aceitoso marrón rojizo, sin purificar (aproximadamente 35 g). El residuo se trató con varios mililitros de etanol absoluto y se concentró a presión reducida. El residuo se mezcló con gel de sílice flash (100 g) y una disolución de metanol al 5% en acetato de etilo (200 mL). La mezcla se filtró y la sílice se lavó dos veces con 200 mL de metanol fresco al 5% en disolución de acetato de etilo. El filtrado se concentró a presión reducida para producir un residuo aceitoso marrón rojizo (aproximadamente 25 g). El residuo se disolvió en varios mililitros de etanol. A continuación se formó un precipitado tras reposar, y se recolectó mediante filtración a vacío. Los sólidos se lavaron con heptano para producir un polvo rojo-naranja pegajoso (4,6 g). El filtrado de etanol-heptano dio lugar a un precipitado que se recolectó mediante filtración a vacío para producir un sólido beige (4,3 g). El sólido beige se disolvió en etanol absoluto sobre vapor. El enfriamiento gradual de la disolución transparente produjo un precipitado que fue recolectado mediante filtración a vacío. Un secado por succión dio lugar a un sólido (2,25 g). El sólido fue hervido en etanol absoluto y precipitado (15 mL) para dar lugar a un sólido blanco (1,62 g). El sólido se hirvió en etanol y se volvió a precipitar para producir el compuesto del título en forma de un sólido blanco (1,20 g). RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 9,12 (s, 1H), 8,46 (d, J=5,9 Hz, 1H), 7,94 (d, J=6,0 Hz, 1H), 7,68-7,64 (m, 2H), 7,48-7,43 (m, 2H), 7,04 (d, J=7,6 Hz, 1H), 2,21 (s, 3H), 2,19 (s, 3H); MS (APCI⁺) m/z 307.

Ejemplo 9. 2-[4-metil-2-(6-metil-piridin-2-il)-2H-pirazol-3-il]-tieno[3,2-c]piridina.

Etapa i: 2-metil-6-(4-metil-pirazol-1-il)-piridina.

Condiciones de reacción 1

5 A una disolución de 4-metil-pirazol (1,0 g) en 50 mL de acetonitrilo anhidro se añadió carbonato de cesio (5,9 g), seguido de 2-fluoro-6-metilpiridina (1,5 g). La mezcla de reacción se agitó a reflujo durante 18 horas. La mezcla de reacción se filtró para eliminar las sales de cesio y a continuación se evaporó el filtrado para producir un aceite sin purificar. La purificación mediante cromatografía flash (gel de sílice, acetato de etilo al 20% en heptano) proporcionó, tras secado, 1,32 g del compuesto del título en forma de un aceite amarillo. RMN de ^1H (400 MHz; $\text{DMSO}-d_6$) δ 8,34 (s, 1 H), 7,80 (t, 1H), 7,63 (d, 1H), 7,59 (s, 1 H), 7,13 (d, 1H), 2,47 (s, 3H), 2,08 (s, 3H); MS (APCI $^+$) m/z 174 (MH^+).

Condiciones de reacción 2

10 La reacción llevada a cabo para la Etapa I para la reacción 1 se llevó a cabo de un modo similar a una mayor escala, comenzando con 4-metil-pirazol (5,0 g). Se produjeron 5,92 g del compuesto del título.

Condiciones de reacción 3

Alternativamente: comenzar con 4-metil-pirazol (1,0 g) en acetonitrilo usando 1,1 equivalentes de t-butóxido de potasio como base, se produjeron 1,75 g del compuesto del título.

15 Condiciones de reacción 4

Alternativamente: comenzar con 4-metil-pirazol (1,0 g) en THF usando 1,1 equivalentes de t-butóxido de potasio como base, se produjeron 0,238 g del compuesto del título.

Condiciones de reacción 5

20 Adicionalmente, el compuesto del título de la Etapa i se preparó como se indica a continuación: a una suspensión de hidruro sódico al 60% (8,04 g) en DMF anhidro (40 mL) en atmósfera de nitrógeno se añadió gota a gota una disolución de 4-metil-pirazol (15 g) en 30 mL de DMF en un baño de hielo a lo largo de un periodo de 40 minutos. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 0,5 horas y a continuación se añadió gota a gota 2-fluoro-6-metilpiridina (22,33 g). La mezcla se agitó a 80°C durante 3 horas y se enfrió. La mezcla de la reacción se vertió en agua-hielo y se extrajo con acetato de etilo dos veces. La fase orgánica combinada se lavó con agua y salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y se filtró. El filtrado se concentró a vacío para dar lugar a un residuo, que se purificó mediante cromatografía (acetato de etilo al 2%-10% en heptanos) para producir 29,9 g del compuesto del título en forma de un aceite incoloro.

25

30 Etapa ii: 2-(5-bromo-4-metilpirazol-1-il)-6-metilpiridina. A una disolución fría (-60°C) de 2-metil-6-(4-metil-pirazol-1-il)-piridina (0,52 g) (preparado mediante las Condiciones de reacción 1 de la Etapa i) en 14 mL de THF anhidro se le añadió 1,33 mL de una disolución 2,5 M de n-butilitio (0,21 g) en hexanos. La mezcla de reacción se agitó a -60°C durante una hora. Se añadió una disolución de 10 mL de N-bromosuccinimida (0,59 g) en THF y a continuación la disolución final se agitó a -60°C durante 2 horas. Se añadió cloruro amónico saturado (20 mL) y a continuación se dejó que la mezcla de reacción se calentara a 24°C. La mezcla de reacción se diluyó con 300 mL de acetato de etilo y a continuación la fase acuosa se separó. La fase orgánica se lavó con cloruro amónico saturado adicional (50 mL) y después salmuera (50 mL). La capa orgánica se separó, se secó (sulfato sódico), se filtró y a continuación el filtrado se evaporó para dar lugar a un aceite rojo sin purificar. La purificación mediante cromatografía flash (gel de sílice, acetato de etilo al 20% en heptano) proporcionó, tras secar, 0,377 g del compuesto del título en forma de un aceite amarillo; RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 7,88 (t, 1H), 7,69 (s, 1H), 7,44 (s, 1H), 7,32 (s, 1H), 2,50 (s, 3H), 2,02 (s, 3H); MS (APCI $^+$) m/z 254 (MH^+).

35

40 Condiciones de reacción alternativas: El compuesto de la Etapa ii, 2-(5-bromo-4-metilpirazol-1-il)-6-metilpiridina, se preparó también como se indica a continuación:

1.) Usando condiciones de reacción similares a las descritas anteriormente, se preparó 2-(5-bromo-4-metilpirazol-1-il)-6-metilpiridina comenzando con 2-metil-6-(4-metil-pirazol-1-il)-piridina (1,0 g) para proporcionar el compuesto del título (829 mg).

45 2.) Usando condiciones de reacción similares a las descritas anteriormente, se preparó 2-(5-bromo-4-metilpirazol-1-il)-6-metilpiridina comenzando con 2-metil-6-(4-metil-pirazol-1-il)-piridina (5,0 g) para proporcionar el compuesto del título (2,64 g).

50 3.) Usando condiciones de reacción similares a las descritas anteriormente, se preparó 2-(5-bromo-4-metilpirazol-1-il)-6-metilpiridina comenzando con 2-metil-6-(4-metil-pirazol-1-il)-piridina (1,0 g) para proporcionar el compuesto del título. Adicionalmente, se usó 1,2-dibromotetrafluoroetano (1,5 equivalentes) en lugar de N-bromosuccinimida (NBS) como agente de bromación (756 mg).

Etapa iii: 2-[4-metil-2-(6-metil-piridin-2-il)-2H-pirazol-3-il]-tieno[3,2-c]piridina. A una disolución de 2-(5-bromo-4-metilpirazol-1-il)-6-metilpiridina (2,0 g) en 20 mL de 1,2-dimetoxietano anhidro (DME) se le añadió dicloruro de bistrifenilfosfina paladio (0,153 g). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos y a continuación se añadieron 20 mL de agua, seguidos de bicarbonato sódico (2,0 g) y después éster de 5-etil-2-(6-metil-piridin-2-il)-2H-pirazol-3-ilo de ácido trifluoro-metanosulfónico (3,1 g). La mezcla de reacción se sometió a reflujo durante 18 horas y entonces se enfrió hasta temperatura ambiente. La mezcla de reacción se diluyó con 400 mL de dietil éter y después la fase orgánica se lavó con agua (100 mL), bicarbonato sódico saturado (2 x 100 mL) y salmuera (100 mL). La capa orgánica se secó (sulfato de magnesio), se filtró y después el filtrado se evaporó para producir una suspensión amarilla. La mezcla se diluyó con 25 mL de acetato de etilo. El material no pasó todo a disolución. La mezcla se trituró durante 15 minutos y entonces se filtró (primera filtración) para eliminar un sólido amarillo, que se aclaró con acetato de etilo (2 x 10 mL). El sólido fue secado al aire durante 15 minutos para dar lugar a 448 mg de producto ligeramente impuro. El filtrado procedente de la primera filtración anterior fue evaporado sobre 6 g de gel de sílice y se sometió a cromatografía flash (gel de sílice, 80% de acetato de etilo en heptano, acetato de etilo, seguido de 95% de acetato de etilo en metanol) para producir 0,565 g. El peso combinado del compuesto del título fue de 1,01 g en forma de sólido amarillo. La precipitación en etanol dio lugar al compuesto del título (0,764 g) en forma de sólido amarillo; punto de fusión 155-156°C; MS (APCI⁺) *m/z* 307 (MH⁺).

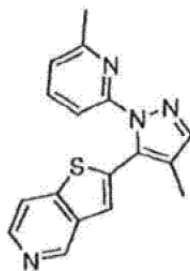
Ejemplo 10. 2-[4-metil-2-(6-metil-piridin-2-il)-2H-pirazol-3-il]-tieno[3,2-c]piridina.

Etapa i: 4-bromo-piridina. Se particionó hidrocloreto de 4-bromopiridina (20,0 g, 102,9 mmol) entre EtOAc y NaHCO₃ al 5%. Las capas fueron separadas, y la fase acuosa se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua y salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄, y se evaporaron a presión reducida en un baño a 40°C para proporcionar 13,7 g (84%) de un aceite volátil que fue usado inmediatamente en la siguiente etapa

Etapa ii: 4-bromo-piridin-3-carbaldehído. Una suspensión de 4-bromopiridina (13,7 g, 86,8 mmol) en 300 mL de THF se purgó con N₂ y se enfrió a -78°C en atmósfera de N₂ seco. Se añadió una disolución de diisopropilamida de litio (disolución 2,0 M en heptano/THF/etilbenceno, 43,4 mL, 86,8 mmol) a lo largo de aproximadamente 3 minutos. Después de 30 minutos, se añadió DMF (dimetilformamida). La mezcla de reacción se mantuvo a -78°C durante 3 horas antes de permitir que se calentara hasta temperatura ambiente durante una noche. La mezcla de reacción se detuvo con NH₄Cl saturado y se concentró a presión reducida para eliminar la mayoría del THF. La mezcla acuosa se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua y salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄, se evaporaron y se sometieron a cromatografía (columna de gel de sílice Analogix de 150 g eluyendo con un gradiente de 100% de heptano a 30% de EtOAc/heptano a lo largo de 45 minutos). Las fracciones que contienen el producto fueron combinadas y evaporadas para producir 2,20 g (13,6 %) del compuesto del título. MS *m/z* 186 (M+H)⁺.

Etapa iii. 1-tieno[3,2-c]piridin-2-il-propan-1-ona. A una disolución de hidrato de hidrosulfito sódico (1,31 g, 17,7 mmol) en 5 mL de agua se le añadió DMF (30 mL) y K₂CO₃ (3,27 g, 23,7 mmol). La mezcla se enfrió hasta 0°C en un baño de hielo antes de añadir 1-bromo-2-butanona (2,68 g, 17,7 mmol). Después de 15 minutos, se añadió una disolución de 4-bromopiridin-3-carbaldehído (2,20 g, 11,8 mmol) en DMF (20 mL). La mezcla de reacción se agitó a 45°C durante 2,5 días. La mezcla de reacción se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua y salmuera, se seca sobre Na₂SO₄, y se evaporó para dar lugar al producto sin purificar (1,80 g, 80% que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. MS *m/z* 192 (M+H)⁺.

Etapa iv: 3-dimetilamino-2-metil-1-tieno[3,2-c]piridin-2-il-propenona. Una disolución de 1-tieno[3,2-c]piridin-2-il-propan-1-ona (1,80 g, 9,41 mmol) y dimetoximetil-dimetil-amina (5,32 mL, 37,8 mmol) en DMF (20 mL) fue purgada con N₂ y se calentó hasta 80°C durante 18 horas. La mezcla de reacción se diluyó con agua/salmuera 1:1 y se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos se lavaron con agua/salmuera 1:1 y salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ y se evaporaron para producir 2,1 g de material sin purificar. El residuo se disolvió repetidamente en tolueno y se evaporó hasta obtener un peso residual constante. MS *m/z* 247 (M+H)⁺.



5 Etapa v: 2-[4-metil-2-(6-metil-piridin-2-il)-2H-pirazol-3-il]-tieno[3,2-c]piridina. Se calentó una disolución de 3-dimetil-amino-2-metil-1-tieno[3,2-c]piridin-2-il-propenona (1,31 g, 5,32 mmol) en ácido acético (20 mL) hasta 90°C. Se calentó una disolución de (6-metil-piridin-2-il)-hidracina en ácido acético (8 mL) hasta 90°C antes de añadir a la disolución de 3-dimetilamino-2-metil-1-tieno[3,2-c]piridin-2-il-propenona. La mezcla se calentó a 95°C durante 15 minutos antes de retirarla del calor y agitar a temperatura ambiente durante 18 horas. Se eliminó el disolvente a presión reducida, y el residuo se evaporó del tolueno dos veces. El residuo así obtenido se sometió a cromatografía (columna de gel de sílice Analogix de 110 g eluyendo con CH₃CN al 100%) para proporcionar 0,45 g (28%) de un aceite naranja.

10 También se llevó a cabo un segundo método de preparación del compuesto de la Etapa iii del Ejemplo 10, (1-tieno[3,2-c]piridin-2-il-propan-1-ona) como se indica a continuación:

15 Etapa i. 4-bromo-piridin-3-carbaldehído. Una suspensión de hidrocloreuro de 4-bromopiridina (5,0 g, 25,7 mmol) en THF (100 mL) se purgó con N₂ y se enfrió a -78°C. Se añadió una disolución de diisopropilamida litio (disolución 2,0 M en heptano/THF/etilbenceno, 27,0 mL, 54,0 mmol) a lo largo de 3 minutos. Después de 30 minutos, se añadió DMF (8,56 mL, 110,6 mmol). La mezcla de reacción se agitó a -78°C durante 15 minutos antes de calentar rápidamente hasta temperatura ambiente en un baño de agua. La reacción se dejó agitando a temperatura ambiente durante 18 horas. La reacción se detuvo con NH₄Cl saturado (100 mL) y se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua y salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄, se evaporaron y se sometieron a cromatografía (columna de gel de sílice Analogix de 150 g eluyendo con un gradiente de 100% de heptano a 50% de EtOAc/heptano a lo largo de 1 hora) para producir 1,50 g (31%) del compuesto del título en forma de sólido amarillo claro. MS *m/z* 186 (M+H)⁺.

25 Etapa ii. Éster metílico de ácido tieno[3,2-c]piridin-2-carboxílico. A una disolución de 4-bromo-piridin-3-carbaldehído (1,50 g, 8,06 mmol) en DMF (10 mL) y agua (1 mL) se añadió K₂CO₃ (1,34 g, 9,68 mmol) y tioglicolato de metilo (0,87 mL, 9,68 mmol). La mezcla se calentó a 45°C durante 18 horas. La mezcla de reacción se retiró del baño de calefacción y se diluyó con agua (50 mL). Después de 1 hora, el sólido amorfo que se formó se filtró y se lavó con agua. El material así obtenido se secó en un horno de vacío a 60°C hasta obtener un peso constante de 0,92 g (59%). MS *m/z* 194 (M+H)⁺.

30 Etapa iii. Metoxi-metil-amida de ácido tieno[3,2-c]piridin-2-carboxílico. Una suspensión de hidrocloreuro de O,N-dimetilhidroxilamina (2,32 g, 23,8 mmol) en THF (20 mL) se purgó con N₂ y se enfrió a -78°C antes de añadir n-butillitio (1,6 M en hexanos, 30,0 mL, 48,1 mmol). Se retiró el baño y se agitó 15 minutos antes de sustituir el baño y añadir una disolución de éster metílico de ácido tieno[3,2-c]piridin-2-carboxílico (0,92 g, 4,76 mmol) en THF (10 mL). Después de 45 minutos, se añadió NH₄Cl saturado. La mezcla se diluyó con EtOAc; se lavó con agua, HCl 1 M, agua, NaHCO₃ al 5%, agua y salmuera; se secó sobre Na₂SO₄ y se evaporó para producir 0,54 g (51%) de un aceite que se solidificó al dejarlo en reposo. El producto así obtenido se usó en la siguiente etapa sin ninguna purificación adicional. MS *m/z* 223 (M+H)⁺.

35 Etapa iv. 1-tieno[3,2-c]piridin-2-il-propan-1-ona. Se disolvió metoxi-metil-amida de ácido tieno[3,2-c]piridin-2-carboxílico (0,54 g, 2,43 mmol) en THF (10 mL), se purgó con N₂ y se enfrió hasta 0°C en un baño de hielo. Se añadió bromuro de etil magnesio (3 M en éter, 2,43 mL, 7,29 mmol), y se dejó la reacción calentar hasta temperatura ambiente durante una noche. La mezcla de reacción no se purificó más. MS *m/z* 192 (M+H)⁺.

40 También se llevó a cabo un tercer método de preparación del compuesto de la Etapa iii del Ejemplo 10, (1-tieno[3,2-c]piridin-2-il-propan-1-ona), como se indica a continuación:

45 Etapa i: N-metoxi-N-metil-propionamida. A una mezcla agitada de hidrocloreuro de O,N-dimetil-hidroxilamina (11,1 g) y cloruro de propilo (9,4 mL) en diclorometano (300 mL) a 0°C en atmósfera de nitrógeno se añadió piridina (18,2 mL). Se retiró el baño frío y se dejó que la mezcla se calentara gradualmente hasta temperatura ambiente, temperatura a la cual se agitó durante un fin de semana. En la mezcla en agitación se había formado un precipitado blanco. La mezcla fue tratada con ácido clorhídrico acuoso al 10% y se agitó hasta que el precipitado se había disuelto en la disolución bifásica. Las capas se separaron y la fase de diclorometano se lavó con bicarbonato sódico acuoso saturado (100 mL) y disolución de salmuera (100 mL), se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, y se concentró a presión reducida para producir el compuesto del título como un aceite transparente incoloro (12,05 g); RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 3,62 (s, 3H), 3,11 (s, 3H), 2,38 (cuarteto, J=7,6 Hz, 2H), 1,07 (t, J=7,6 Hz, 3H); RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ 175,5; 61,3; 32,5; 25,4; 8,9; MS (APCI+) *m/z* 118 (MH+).

55 Etapa ii: 1-tieno[3,2-c]piridin-2-il-propan-1-ona. A una agitación mezclada de tieno[3,2-c]piridina (1,0 g) en tetrahidrofurano anhidro (50 mL) a -40°C (baño de acetónitrilo-hielo seco) se le añadió una disolución de n-butillitio (1,6 M, 4,7 mL) en hexanos. La mezcla se enfrió a -78°C seguido de la posterior adición de una disolución de N-metoxi-N-metil-propionamida (0,97 g) en tetrahidrofurano anhidro (10 mL). El baño frío se eliminó y la mezcla de reacción se dejó calentar gradualmente hasta temperatura ambiente. La mezcla se agitó durante una noche (14 horas). La mezcla se trató con cloruro amónico acuoso saturado (150 mL). La mezcla se extrajo entonces con acetato de etilo (500 mL), y el extracto se lavó con disolución de salmuera (100 mL). La fase orgánica se secó sobre

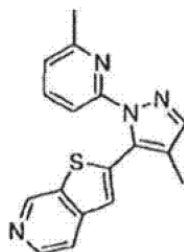
carbonato potásico anhidro y se concentró a presión reducida, se reconstituyó en cloroformo y se concentró de nuevo a presión reducida para producir el semisólido naranja-marrón (1,17 g). El semisólido se purificó mediante cromatografía de sílice flash usando una columna Analogix de sílice (115 g de sílice), eluyendo con 0-30% de acetato de etilo/heptano, después 30-60% de acetato de etilo/heptano. La concentración de fracciones que contiene producto dio lugar a 0,49 g de producto. El material de partida (0,45 g) también se aisló mediante evaporación de las fracciones apropiadas.

Ejemplo 11. 2-[4-metil-2-(6-metil-piridin-2-il)-2H-pirazol-3-il]-tieno[3,2-c]piridina. Un matraz de fondo redondo de tres bocas de 500 mL equipado con un condensador de reflujo y válvula de entrada de gas se cargó con 2-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-tieno[3,2-c]piridina (10 g), éster de 4-metil-2-(6-metil-piridin-2-il)-2H-pirazol-3-ilo de ácido trifluoro-metanosulfónico (14 g), fosfato potásico tribásico (24 g) y 1,4-dioxano (200 mL). El recipiente de reacción se evacuó y se venteó con gas nitrógeno. La desgasificación y el venteo de nitrógeno se repitió dos veces. Se añadió a la mezcla aducto de dicloro[1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]paladio (II) diclorometano (3,2 g), 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno (2,2 g), fluoruro potásico (11 g) y agua (1 mL) y la mezcla de agitación se desgasificó y se venteó con gas nitrógeno tres veces más, y posteriormente se llevó gradualmente a 80°C a lo largo de un periodo de veinte minutos. La mezcla se agitó a 80°C durante diez minutos y posteriormente se enfrió gradualmente hasta temperatura ambiente dejándola reposar durante la noche. La mezcla se filtró a vacío a través de Celite y se lavó a través del filtro con dos porciones de acetato de etilo (800 mL y 600 mL). Los filtrados se combinaron y se concentraron a presión reducida para producir un residuo oscuro. El residuo se disolvió en diclorometano (200 mL). Precipitó un sólido y se eliminó mediante filtración a vacío. El filtrado se disolvió en diclorometano (200 mL). Precipitó un sólido y se retiró mediante filtración a vacío. El filtrado se concentró a presión reducida para producir un sólido naranja-marrón (20 g). El sólido se trató con acetonitrilo a temperatura ambiente (200 mL) y la suspensión resultante se agitó y se filtró a vacío para producir un sólido amarillo (9,1 g). Este segundo sólido se disolvió en acetonitrilo hirviendo sobre un baño de vapor (75 mL de disolución, volumen en caliente) y la disolución naranja se dejó enfriar hasta temperatura ambiente a lo largo de treinta minutos. Precipitó un sólido, y el matraz se selló y se almacenó a 4°C durante una noche. El precipitado se filtró a vacío y se secó por succión para producir el compuesto del título en forma de un sólido blanquecino (4,80 g). Este sólido se combinó con lotes de sólido aislados de un modo similar al de otros experimentos (21,5 g de masa total) para producir un sólido combinado.

El sólido combinado se combinó adicionalmente con el sólido (8,92 g) obtenido a partir del siguiente experimento:

Se purgaron disoluciones de 3-dimetilamino-2-metil-1-tieno[3,2-c]piridin-2-il-propenona (31,35 g) en ácido acético glacial (500 mL) y (6-metil-piridin-2-il)-hidracina (15,67 g) en ácido acético glacial (200 mL) con nitrógeno seco y se calentó a 90°C en atmósfera de nitrógeno. Se combinaron las dos mezclas y se calentaron a 95°C durante 15 minutos. Se cortó la calefacción y se dejó enfriar la mezcla de reacción y se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La mezcla de reacción sin purificar se concentró hasta aproximadamente 100 g de un aceite oscuro a presión reducida. El residuo se disolvió en tolueno y se evaporó hasta aproximadamente 70 g. Se detectó un fuerte olor a ácido acético, por lo que el evaporado se disolvió en tolueno y se evaporó hasta aproximadamente 70 g de un aceite. Aunque el residuo así obtenido todavía presentaba un ligero olor a ácido acético, se disolvió en acetonitrilo (200 mL) y se dejó reposar a temperatura ambiente. Después de 2,5 días no se había formado ningún depósito, por lo que la disolución se evaporó a presión reducida en un baño de 60°C. El aceite resultante se disolvió en acetonitrilo (aproximadamente 200 mL) y se dejó enfriar a temperatura ambiente. Se había formado una pequeña cantidad de precipitado que fue recogida y lavada con una pequeña cantidad de acetonitrilo. Tras filtrar, precipitó una gran cantidad de sólido del licor madre. El precipitado se recolectó y se lavó con una pequeña cantidad de acetonitrilo. Tras secar en un horno a vacío a 60°C, se obtuvieron 12,05 g de material. El sólido así formado se volvió a aislar en 250 mL de acetonitrilo hirviendo para proporcionar, tras secar hasta peso constante en un horno de vacío a 60°C, el sólido (8,92 g) 2-[4-metil-2-(6-metil-piridin-2-il)-2H-pirazol-3-il]-tieno[3,2-c]piridina.

Los lotes combinados de 21,5 g y 8,92 g se suspendieron en acetonitrilo hasta un volumen total de 500 mL. La suspensión se calentó sobre un baño de vapor hasta ebullición. La mayoría del sólido se disolvió en la disolución, pero algunas partículas quedaron sin disolver y fueron retiradas mediante filtración en caliente a vacío. El filtrado recolectado en el matraz de 2 L rápidamente dio lugar a un precipitado sólido blanco. Se añadió acetonitrilo hasta un volumen de 600 mL. El filtrado se hirvió sobre una corriente de vapor hasta que todos los sólidos se habían disueltos. El matraz se retiró de la corriente de vapor y la mezcla se enfrió gradualmente hasta temperatura ambiente al permanecer sobre la poyata durante 2,5 horas. Se formó un sólido blanco de la disolución con el tiempo y se recolectó mediante filtración a vacío para producir el compuesto del título en forma de sólido blanco (24,85 g); RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 9,06 (d, J=0,8 Hz, 1H), 8,43 (d, J=5,7 Hz, 1H), 7,72 (ddd, J=5,7, 1,0, 0,8 Hz, 1H), 7,64 (s, 1H), 7,61 (t, J=7,8 Hz, 1H), 7,36 (d, J=8,0 Hz, 1H), 7,31 (d, J=0,8 Hz, 1H), 7,03 (d, J=7,6 Hz, 1H), 2,26 (s, 3H), 2,18 (s, 3H); MS (APCI⁺) m/z 307 (MH⁺), (APCI⁻) m/z 305 (M-H⁺).



Ejemplo 12. 2-(4-metil-1-(6-metilpiridin-2-il)-1H-pirazol-5-il)tieno[2,3-c]piridina.

La tieno[2,3-c]piridina de la Etapa iii, el Ejemplo 12, ha sido sintetizada previamente (véase, p. ej., Graulich et al. (2004) *Synthesis* 12: 1935-1937; Graulich et al. (2005) *J. Med. Chem.* 48(15): 4972-4982).

5 Etapa i. (2,2-dimetoxi-etil)-tiofen-2-ilmetilen-amina. Una disolución de tiofen-2-carboxaldehído (7,5 mL, 82,3 mmol, Alfa Aesar), aminoacetaldehído dimetil acetal (8,82 mL, 82,3 mmol, Alfa Aesar) en 100 mL de tolueno se calentó hasta 115°C usando una trampa Dean-Stark para eliminar agua. Después de 3 horas, la reacción se enfrió hasta temperatura ambiente. La reacción se colocó en un rotavapor para evaporar el tolueno, que dio lugar a un líquido marrón (aproximadamente 17,3 g), que se usó en la siguiente etapa sin ninguna manipulación adicional. RMN de ¹H (400 MHz, cloroformo-*d*) δ ppm 3,42 (6 H, s), 3,73 (1 H, d, *J*=5,3 Hz), 4,65 (1 H, t, *J*=5,3 Hz), 7,07-7,41 (3 H, m).

10 Etapa ii. Éster dimetilico de ácido {[[(2,2-dimetoxi-etil)-toxicarbonil-amino]-tiofen-2-il-metil]-fosfónico. Al aceite obtenido en la Etapa i (16,3 g, 82,3 mmol) se añadieron 60 mL de THF en atmósfera de N₂. La reacción se enfrió a -10°C (MeOH/hielo) y se ajustó con un termómetro interno. Se añadió gota a gota un cloroformato de etilo (7,9 mL, 82,3 mmol) manteniendo la temperatura interna a -9,5°C o menos. La reacción se agitó durante 10 minutos a -10°C y a continuación se retiró el baño y se dejó que la reacción se calentara hasta temperatura ambiente. Usando un baño de hielo como sumidero de calor, se añadió trimetil fosfite (10,7 mL, 90,5 mmol). Se dejó que la reacción se calentara gradualmente a temperatura ambiente y se agitó durante una noche. Se eliminó el disolvente en un rotavapor. Se añadió tolueno y se evaporó en un rotavapor. A continuación se llevó a cabo la adición de tolueno y la evaporación una segunda vez.

15 El aceite espeso marrón resultante se purificó mediante cromatografía en columna (sistema Biotage Horizon, columna Isco RediSep de 330 g, 0-100% de EtOAc/hexano sobre 1 volumen de columna, después se mantiene a 100% de EtOAc). Las fracciones deseadas se combinaron y se concentraron para producir 23,48 g de un aceite espeso marrón.

20 Etapa iii. Tieno[2,3-c]piridina. El material procedente de la Etapa ii (23,5 g, 61,6 mmol), se disolvió en 100 mL de CH₂Cl₂. El matraz de tres bocas se equipó con un condensador de reflujo y un termómetro interno en atmósfera de N₂. El matraz se evacuó y se purgó con nitrógeno. Se añadió cloruro de titanio (IV) (40 mL, 369 mmol) a la reacción lentamente. La temperatura de reacción se mantuvo a aproximadamente 40°C. Después de que se hubieran añadido aproximadamente 15 mL, la reacción se llevó a un baño de hielo para controlar la temperatura. Se dejó que la reacción se calentara gradualmente hasta temperatura ambiente antes de calentar a 40°C durante una noche. La reacción se calentó a 40°C durante 18 horas, después de enfrió hasta temperatura ambiente. El contenido de la reacción se vertió, en porciones, en un vaso de precipitados más grande que contenía 200 g de hielo y 200 mL de NH₄OH, observándose un gran desprendimiento de vapores. La reacción se agitó vigorosamente durante unos pocos minutos. La reacción se filtró y el sólido se aclaró con CHCl₃ (3x100 mL).

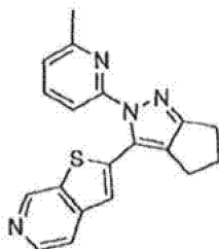
25 El filtrado bifásico se transfirió a un embudo decantador y las capas se separaron. La capa orgánica se extrajo en HCl 1 N (2x100 mL). La capa de HCl acuoso se lavó con 20 mL de CH₂Cl₂ y se basificó con cuidado con NH₄OH concentrado hasta alcanzar un pH de 9. El producto fue extraído en CH₂Cl₂ (3x100). La capa orgánica se secó sobre MgSO₄, se filtró, se concentró hasta un aceite naranja que solidificó en un sólido naranja. El material sin purificar se purificó mediante cromatografía en columna (sistema Biotage Horizon, columna Isco RediSep de 120 g, equilibrada con 100% de heptano, elución con EtOAc al 45%/heptano). Se aisló un sólido blanco (4,20 g). RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 7,56 (1 H, dd, *J*=5,5, 0,8 Hz), 7,86 (1 H, dd, *J*=5,5, 1,0 Hz), 8,10 (1 H, d, *J*=5,3 Hz), 8,46 (1 H, d, *J*=5,5 Hz), 9,25 (1 H, s). RMN de ¹H (400 MHz, cloroformo-*d*) δ ppm 7,40 (1 H, d, *J*=5,5 Hz), 7,74 (2 H, m), 8,52 (1 H, d, *J*=5,5 Hz), 9,19 (1 H, s). MS (APCI, M+1) 136,0.

30 El filtrado bifásico se transfirió a un embudo decantador y las capas se separaron. La capa orgánica se extrajo en HCl 1 N (2x100 mL). La capa de HCl acuoso se lavó con 20 mL de CH₂Cl₂ y se basificó con cuidado con NH₄OH concentrado hasta alcanzar un pH de 9. El producto fue extraído en CH₂Cl₂ (3x100). La capa orgánica se secó sobre MgSO₄, se filtró, se concentró hasta un aceite naranja que solidificó en un sólido naranja. El material sin purificar se purificó mediante cromatografía en columna (sistema Biotage Horizon, columna Isco RediSep de 120 g, equilibrada con 100% de heptano, elución con EtOAc al 45%/heptano). Se aisló un sólido blanco (4,20 g). RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 7,56 (1 H, dd, *J*=5,5, 0,8 Hz), 7,86 (1 H, dd, *J*=5,5, 1,0 Hz), 8,10 (1 H, d, *J*=5,3 Hz), 8,46 (1 H, d, *J*=5,5 Hz), 9,25 (1 H, s). RMN de ¹H (400 MHz, cloroformo-*d*) δ ppm 7,40 (1 H, d, *J*=5,5 Hz), 7,74 (2 H, m), 8,52 (1 H, d, *J*=5,5 Hz), 9,19 (1 H, s). MS (APCI, M+1) 136,0.

35 Etapa iv. Trihidrógeno fosfato de ácido tieno[2,3-c]piridin-2-ilborónico. Un matraz de tres bocas equipado con un termómetro interno que contenía el material de la Etapa iii (4,12 g, 30,5 mmol) se evacuó y entonces se llenó con una atmósfera de nitrógeno. Se añadió THF (50 mL) y la disolución se enfrió a -44°C (CH₃CN/hielo seco). Se añadió n-butillitio (1,6 M/hexano, 21 mL, 34 mmol) a lo largo de 10 minutos, manteniendo la temperatura interna en -35°C o menos. La reacción se agitó a entre -33 y -45°C durante 75 minutos. Se añadió borato de triisopropilo (8,4 mL, 36,6

mmol) y se retiró el baño de enfriamiento. La reacción se agitó durante una hora y después se añadió ácido fosfórico (85% en agua, 2,5 mL, 33,5 mmol). La reacción se diluyó con 10 mL de agua, dando como resultado un precipitado. La reacción se agitó vigorosamente durante 15 minutos. Se recolectó un sólido amarillo mediante filtración, se aclaró con EtOAc (aproximadamente 50 mL) para proporcionar un sólido en polvo blanco (9,57 g). Aproximadamente la mitad del material se lavó con 50 mL de agua para aislar 3,16 g de un sólido rosa claro. Ambos cultivos de material son iguales, según se determinó a través de los datos espectrales. RMN de ^1H (400 MHz, *metanol-d₄*) δ ppm 7,87 (1 H, d, J=5,5 Hz), 7,95 (1 H, s), 8,41 (1 H, d, J=5,7 Hz), 9,11 (1 H, s).

Etapa v. 2-(4-metil-1-(6-metil)piridin-2-il)-1H-pirazol-5-il)tieno[2,3-c]piridina. En un matraz de tres bocas de 250 mL se añadió éster de 4-metil-2-(6-metil-piridin-2-il)-2H-pirazol-3-ilo de ácido trifluoro-metanosulfónico (1,23 g, que se puede sintetizar como se describe en el Ejemplo 7, Etapa iv), el material procedente de la Etapa iv (2,00 g), fluoruro de potasio (1,1 g), fosfato potásico tribásico (2,44 g) en 50 mL de dioxano. El matraz se evacuó a vacío y se purgó con gas nitrógeno. A éste se añadió $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$ (Strem, aducto de dicloro[1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]paladio (II) diclorometano, 280 mg) y ligando dppf (Strem, 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno, 212 mg) y agua (0,10 mL). La reacción se calentó a 80-111°C durante 2,5 horas y después se enfrió a temperatura ambiente. La reacción se combinó con material procedente de otra reacción que se preparó de un modo similar. El material de la reacción sin purificar se filtró a través de un filtro de Celite aclarando con EtOAc (aproximadamente 750 mL). El filtrado se concentró hasta sequedad en un rotavapor. El residuo oscuro se diluyó con CH_2Cl_2 y el sólido se retiró por filtración. El filtrado de CH_2Cl_2 se concentró en un rotavapor hasta obtener un residuo negro. El material sin purificar se purificó filtrando a través de un filtro de gel de sílice eluyendo con 50% de EtOAc/hexano (aproximadamente 800 mL en total). Las fracciones procedentes de la filtración con filtro de gel de sílice dieron lugar a dos lotes de material (uno puro, uno impuro). Éstos se concentraron hasta sequedad por separado. El material impuro se trituró con Et_2O y se recolectó un sólido blanco mediante filtración. El filtrado se concentró y se repitió la trituración en Et_2O para dar lugar a 83 mg. Las fracciones que contenían solo el producto deseado más el lote de 83 mg fueron combinadas y purificadas juntas con el lote puro. Se añadieron aproximadamente 5-10 mL de EtOH al material, que se calentó hasta ebullición. Una vez que el material se disolvió, se retiró del calor y se dejó reposar. Entonces comenzó a precipitar un sólido beige. Los licores madre fueron retirados por decantación y el precipitado se aclaró con una pequeña cantidad de EtOH frío. El precipitado se secó en un horno a vacío a 50°C durante una noche para producir 550 mg de un sólido beige. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 9,09 (1 H, s), 8,50 (1 H, d, J= 5,7 Hz), 7,62-7,69 (3 H, m), 7,39 (1 H, d, J= 7,99 Hz), 7,27 (1 H, d, J= 0,6 Hz), 7,04 (1 H, d, J= 7,4 Hz), 2,25 (3 H, s), 2,19 (3 H, s). MS (APCI, M+1) 307,1. P.f. 124-125°C.



Ejemplo 13. 2-(2-(6-metilpiridin-2-il)-2,4,5,6-tetrahidrociclopenta[c]pirazol-3-il) tieno[2,3-c]piridina. En un matraz de tres bocas de 250 mL se añadió éster de 2-(6-metil-piridin-2-il)-2,4,5,6-tetrahidro-ciclopentapirazol-3-ilo de ácido trifluoro-metanosulfónico (1,33 g, que puede sintetizarse como se describe en el Ejemplo 5, Etapa iv), el material procedente del Ejemplo 12, Etapa iv (2,00 g), fluoruro de potasio (1,11 g), fosfato potásico tribásico (2,44 g) en 45 mL de dioxano. El matraz se evacuó a presión reducida y se purgó con gas nitrógeno. A éste se añadió $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$ (Strem, aducto de dicloro[1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]paladio (II) diclorometano, 280 mg) y ligando dppf (Strem, 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno, 212 mg) y agua (0,10 mL). La reacción se calentó a 80-111°C durante 3,5 horas y después se enfrió hasta temperatura ambiente. El material de la reacción se filtró a través de un filtro de Celite aclarando con EtOAc (aproximadamente 250 mL). El filtrado de EtOAc se concentró hasta sequedad en un rotavapor. El residuo oscuro resultante se diluyó con CH_2Cl_2 y el sólido se retiró por filtración. El filtrado de CH_2Cl_2 se concentró en un rotavapor hasta obtener un residuo negro que se diluyó con CH_3CN y se sometió a ultrasonidos. Se recolectó un sólido tostado (0,520 g) por filtración. El filtrado se concentró hasta sequedad y se purificó mediante cromatografía de columna (sistema Biotage Horizon, columna Analogix de 12 g, 0-50% de EtOAc/heptano, después se mantiene a 50% de EtOAc/heptano) para producir aproximadamente 300 mg de un sólido. Los 300 mg del sólido y el sólido tostado (0,520 g) se combinaron y se diluyeron con aproximadamente 10 mL de EtOH, se calentó hasta ebullición, se filtró y se dejó enfriar a temperatura ambiente. Comenzó a precipitar un material sólido. Después de reposar durante una noche a temperatura ambiente, los licores madre se separaron por decantación y el material restante se aclaró con una pequeña cantidad de EtOH frío. El sólido se secó en un horno a vacío de 45°C durante 1,5 horas para proporcionar 410 mg de un sólido. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 9,05 (1 H, s), 8,45 (1 H, d,

$J=5,7$ Hz), 7,70 (1 H, t, $J=7,7$ Hz), 7,62 (1H, d, $J=5,7$ Hz), 7,38 (1 H, d, $J=7,9$ Hz), 7,25 (1 H, d, $J=1,2$ Hz), 7,15 (1 H, d, $J=7,6$ Hz), 2,85-2,91 (4 H, m), 2,51-2,58 (2 H, m), 2,46 (3 H, s). MS (APCI, M+1) 333,1. P.f. 145-146°C.

5 Ejemplo 14. 2-[4-metil-2-(6-metilpiridin-2-il)-2H-pirazolo-3-il]tieno[3,2-c]piridina. Se preparó una suspensión de éster de 4-metil-2-(6-metil-piridin-2-il)-2H-pirazolo-3-ilo de ácido trifluorometanosulfónico (36,6 g, 114 mmol), carbonato potásico (39,4 g, 285 mmol) y 2-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-tieno[3,2-c]piridina (31,2 g, 120 mmol) en tolueno (300 mL), alcohol isopropílico (IPA) (75 mL) y agua (75 mL). La mezcla de reacción se sometió secuencialmente a vacío seguido de venteo con nitrógeno. Esto se repitió un total de cinco veces. Se añadió cloruro de bis(trifenilfosfino)paladio (II) (4,4 g, 6,27 mmol), y la reacción se calentó a 78°C. Después de 2 horas, la mezcla de reacción se dejó enfriar. La capa acuosa se separó, y la capa orgánica se filtró para eliminar el residuo negro de catalizador. La capa orgánica se lavó con agua (80 mL). La capa orgánica fue extraída con HCl 3 M (100 mL) y agua (100 mL). Se añadió carbón (0,5 g) y celite (9 g) a la capa acuosa y la disolución se concentró para eliminar el tolueno residual. La capa acuosa se filtró. La capa acuosa se basificó (pH = 10) con la adición de NaOH al 50%. Precipitó un sólido amarillo. El sólido se filtró, se lavó con agua y se secó haciendo pasar aire a su través para dar lugar a 24,1 g (69,1%) de un sólido amarillo. El sólido se suspendió en tolueno (250 mL). La suspensión se calentó a 65°C y se filtró. El filtrado se concentró. El residuo se suspendió en tolueno (100 mL) y se filtró. La torta se lavó con tolueno (40 mL). La torta se secó haciendo pasar aire a su través para dar lugar a 19,2 g (55%) de producto sin purificar.

20 Los 19,2 g se combinaron con otras muestras preparadas de forma similar para producir 141,7 g. Los sólidos combinados se suspendieron en IPA (500 mL) y la suspensión se calentó a 83°C, pero el sólido no pasó completamente a disolución. Se añadió IPA (300 mL) y la suspensión se calentó hasta 83°C para producir una disolución oscura. Se dejó que la disolución se enfriara a temperatura ambiente a 8°C/hora. La suspensión se filtró y la torta se lavó con IPA (200 mL). La torta se secó a 50°C durante 60 horas para dar lugar a 131,8 g del producto deseado.

Ejemplo Biológico 1

25 Los métodos de ensayo de ALK-5 quinasa han sido descritos en la técnica (véase, p. ej., Laping et al. (2002) *Mol. Pharmacol.* 2002; 62: 58-62). Los compuestos nombrados en los Ejemplos especificados fueron evaluados como se indica a continuación en la inhibición de actividad de autofosforilación de ALK-5 y de fosforilación de ALK-5 de α -caseína. Materiales:

- Disolución tamponante: HEPES 50 mM, pH 7,6, con NaCl 10 mM, $MgCl_2$ 10 mM y DTT 1 mM.
- 30 • Proteína GST-ALK-5 – 0.44 mg/mL (reserva aprox. 7 μ M). Una dilución 1:350 da lugar a una reserva 20 nM, lo que se traduce en una concentración final de 2 nM en el ensayo. Se expresó ALK-5 humana en células de insecto Sf9 infectadas con Baculovirus que expresa una secuencia de truncamiento de ALK-5 (aminoácidos H¹⁴⁹–M⁵⁰³), fusionada en el extremo N a Glutathione S-transferasa GST, en un vector pFastBac (Invitrogen). Las células fueron desintegradas mediante aplicación de ultrasonidos a 4°C. El lisato se centrifugó a 40.000 x g durante 45 minutos y el sobrenadante se aplicó a una columna de 10 mL de *Glutathione Sepharose 4 Fast Flow* (Amersham Biosciences) equilibrada con tampón de Tris-HCl 100 mM, pH 7,6, que contenía NaCl 300 mM, un 10% de glicerol, un 1% de NP40, ditioneitol (DTT) 2 mM y un comprimido libre de EDTA completo de Inhibidor de Proteasa por cada 50 mL (Roche). La columna se lavó con 5 volúmenes de columna de Tris HCl 50 mM, pH 8,0, que contenía NaCl 150 mM, un 10% de glicerol, DTT 2 mM y un comprimido libre de EDTA completo de Inhibidor de Proteasa por cada 100 mL. La columna se eluyó con tampón de lavado que contenía glutathione reducida 8 mM. Las fracciones fueron recolectadas y dializadas durante una noche en Tris HCl 20 mM, pH 8,0, que contenía un 10% de glicerol, NaCl 150 mM, DTT 2 mM y fluoruro de 4-(2-aminoetil)-bencenosulfonilo 1 mM. HCl (AEBSF) (Sigma) a 4°C.
- α -Caseína (Sigma, n° C8032): se prepara a 2 mM en Tampón (50 mg/mL).
- 45 • ATP frío: contiene ATP frío 10 μ M (procedente de una reserva 10 mM en Tampón).
- ATP caliente: consiste en 0,5 μ Ci/pocillo de γ -³³P-ATP (Amersham, AH9968) en Tampón.
- Tampón de Ensayo – por cada 10 mL de tampón
 - 1 mL de HEPES 500 mM (pH 7,6)
 - 20 μ L de NaCl 5 M
 - 50 100 μ L de $MgCl_2$ 1 M
 - 10 μ L de DTT (ditioneitol) 1 M

Método de ensayo:

5 En una placa de fondo de filtro de 96 pocillos (Millipore, nº MSDV N6B 50), se añadieron 58 µL de tampón de ensayo por pocillo. Se añaden 10 µL de mezcla de ATP frío en tampón de ensayo, a continuación 10 µL de una dilución 1:10 de reserva de α-caseína. Entonces se añaden 2 µL del compuesto a evaluar (DMSO) a una concentración final 50X. Se añade la mezcla de ATP caliente (10 µL) y se inicia la reacción mediante la adición de 10 µL de una dilución 1:350 de la proteína ALK-5 (2 nM final) en tampón de ensayo con BSA (albúmina de suero bovino) al 0,05%. La reacción se mezcla durante 5 minutos a temperatura ambiente y a continuación se continúa durante 145 minutos a temperatura ambiente. Entonces se detiene la reacción mediante la adición de 100 µL de TCA (ácido tricloroacético) al 20% enfriado en hielo. A continuación el ensayo se incuba durante al menos 1 hora a 4°C, y después se filtra el contenido de cada pocillo mediante succión a través del filtro. Los pocillos se lavan tres veces con 200 µL de TCA al 10% enfriado en hielo. La placa del fondo es teñida antes y después de retirar la subbase de plástico, y se seca durante una noche a temperatura ambiente. Se añaden 30 µL de fluido de centelleo, y se hace el conteo 1 minuto por pocillo con un contador de centelleo Wallac Tri-Lux.

15 En la Tabla 2 mostrada a continuación se presentan los valores de IC₅₀ (nM) como la media de dos o más valores de IC₅₀ determinados en uno o más experimentos. El número de determinaciones (“n”) se incluye entre paréntesis. Los valores individuales que produjeron los valores medios de IC₅₀ se enumeran dentro de los paréntesis, cuando había 4 o menos determinaciones. También se muestra el error estándar (SE, del inglés “standard error”). El error estándar es la desviación estándar dividida por el número de determinaciones (“n”).

Tabla 2

Ejemplo	IC ₅₀ (nM)
1	23,4 (n=18); SE=3,5
2	94,1 (n=2; 111, 76,8); SE=17,3
3	108 (n=2; 121, 94,8); SE=13,3
4	4,33 (n=4; 1,0, 2,84, 5,66, 7,82); SE=1,51
5	12,9 (n=4; 31, 12,5, 1,0, 7,24); SE=6,46
6	35,2 (n=2; 38,6, 31,8); SE=3,41
7	6,65 (n=16); SE=0,61
12	7,94 (n=2; 10,4, 5,47); SE=2,48
13	18,9 (n=2; 26,7, 11,2); SE=7,73

20 Ejemplo Biológico 2

25 En la técnica se han descrito métodos de ensayo de gen indicador de ALK-5 (véase, p. ej., Maliekal et al. (2004) *J Biol Chem* 279(35): 36287-36292). Los compuestos nombrados en los Ejemplos especificados fueron evaluados como se indica a continuación para la determinación de la actividad de indicador de luciferasa de elemento de unión Smad (SBE) en células NIH-3T3 estimuladas con TGFβ1. El siguiente ensayo de luciferasa emplea células NIH/3T3 (fibroblastos murinos), que son transfectadas transitoriamente con una construcción de indicador de luciferasa de elemento de unión Smad (SBE). Esta construcción expresada tiene capacidad de respuesta frente a agentes que estimulan el mecanismo de señalización de Smad.

Materiales:

- Células NIH-3T3 (ATCC CRL-1658)
- 30 • Medio Eagle Modificado de Dulbecco con rojo de fenol (Life Technologies 11965-092)
- Medio Eagle Modificado de Dulbecco sin rojo de fenol (Life Technologies 21063-029)
- Suero bovino fetal (Life Technologies SH30071.03)
- Fugeno (Roche 1814443)
- Opti-MEM I (Life Technologies 31985-070)

ES 2 435 430 T3

- Sistema de Ensayo de Luciferasa Dual-Glo (Promega E2940, E2980)
 - Disolución de gentamicina (10 miligramos/mililitro) (Life Technologies 15710-064)
 - Placas de ensayo de 96 pocillos, blancas, TCT (Corning Costar 3917)
 - Matraces de cultivo de tejido de 75 centímetros (Corning Costar 430641)
- 5
- Vector pRL-CMV (Promega Corporation, Madison, WI, Producto E2261) (pRL es un vector que codifica luciferasa de *Renilla reniformis* bajo el control de un promotor de citomegalovirus (CMV) constitutivamente activo)
 - Factor de crecimiento transformante β_1 – (R&D Systems, Minneapolis, MN, Producto 240-B)
 - Vector pSBE4-Luc/BV4 (también conocido como vector pSBE4-luc) (que contiene 4 copias de un Elemento de Unión Smad y región de codificación de luciferasa de luciérnaga) (Zawel et al. (1998) *Mol Cell.* 1(4): 611-617).
- 10 Métodos:
- Las células NIH-3T3 se mantuvieron en Medio Eagle Modificado de Dulbecco con un 10% de Suero Fetal Bovino y 10 microgramos/mL de gentamicina. Las células se dividen cada lunes, de 1:5 a 1:10, y se dividen de nuevo los miércoles. Las células se dividen el viernes, 1:20, para las células requeridas en el ensayo y se mantienen el lunes. No se permite que las células crezcan hasta confluencia total.
- 15 Día 1, 0 horas (inicio del experimento)
- Se colocan en placa 1,6 millones de células NIH/3T3 en un matraz de 75 centímetros para transfecciones usando 15 mililitros de medio de cultivo (Medio Eagle Modificado de Dulbecco, 10% de Suero Fetal Bovino, 10 microgramos/mililitro de gentamicina).
- Día 1, 7 horas post-inicio de experimento
- 20 Se prepara la transfección:
- a. En un tubo de microcentrifuga de 1,5 mililitros, se añaden 48 microlitros de Fugeno directamente a 400 microlitros de Opti-MEM. Se incuba a temperatura ambiente durante 5 minutos.
 - b. Durante el anterior periodo de incubación, se toman alícuotas de 8 microgramos de SBE-luc y 0,16 microgramos de CMV-pRL a 400 microlitros de Opti-MEM.
- 25
- c. Se añade Fugeno/Opti-MEM de la etapa “a” a ADNs de la etapa “b”. Se incuba a temperatura ambiente durante 15-45 minutos.
 - d. Se añaden ADNs complejados a las células en placa (Día 1, 0 horas). No es necesario cambiar el medio. Se incuba durante una noche a 37°C, 5% de CO₂.
- Día 2, 24 horas post-inicio del experimento
- 30 Se prepara suspensión(es) de células a partir de células transfectadas (Día 1, etapa 2) con una densidad de 200.000 células/mL en Medio Eagle Modificado de Dulbecco, 10% de Suero Fetal Bovino, 10 microgramos/mililitro de gentamicina. Se llevan a placa las células sobre placas de ensayo (TCT blanco), 100 microlitros/pocillo para placas de 96 pocillos. Esto deja el número de células en 20.000 células/pocillo. Se incuba durante 5-6 horas a 37°C, 5% de CO₂.
- 35 Día 2, 31 horas post-inicio del experimento
- a. Se preparan placas de dosis-respuesta si es necesario.
 - b. Se lava la placa con 100 microlitros de Medio Eagle Modificado de Dulbecco, 10 microgramos/mililitro de gentamicina sin suero.
 - c. Se añaden 170 microlitros/pocillo de Medio Eagle Modificado de Dulbecco, 10 microgramos/mililitro de gentamicina, 0,5% de Suero Fetal Bovino.
- 40
- d. Se transfieren los compuestos evaluados y los controles a las placas de ensayo (blanco, TCT), 20 microlitros de reserva 10X para placas de 96 pocillos.
 - e. Después de 30-60 minutos de tratamiento con el compuesto, se añaden 250 picogramos/mililitro de Factor de Crecimiento Transformante β_1 a cada pocillo. (Añadir 10 microlitros de una reserva 20X).

ES 2 435 430 T3

Día 3, 51 horas post-inicio del experimento

Placas de ensayo para la actividad de luciferasa.

- a. Se reconstituye Sustrato de Luciferasa Dual-Glo liofilizado con Tampón de Luciferasa Dual-Glo siguiendo las indicaciones del fabricante.
- 5 b. Se retiran las placas de ensayo del incubador y se permite que alcancen temperatura ambiente durante 10 minutos.
- c. Se aspira el medio de la placa de ensayo. Se añaden 80 microlitros de Sustrato de Luciferasa Steady-Glo diluido que contiene 1 parte de Medio Eagle Modificado de Dulbecco sin rojo de fenol. Se sellan las placas y se incuban durante al menos 10 minutos a temperatura ambiente.
- 10 d. Se lee en un lector de placas Packard TopCount HTS usando el modo de conteo de fotón individual (SPC, del inglés "single photon counting") a 6 segundos/pocillo para leer la actividad de luciferasa de luciérnaga de pSBE4-Luc/BV4 pSBE4-luc.
- e. Después de leer las placas para determinar la actividad de luciferasa de luciérnaga, se retiran los sellos y se añaden 40 microlitros de reactivo "Stop and Glo" a cada pocillo. Se vuelven a sellar las placas y se cultivan durante al menos 10 minutos a temperatura ambiente. Se leen las placas en el Packard TopCount como con la luciferasa de luciérnaga, para leer la actividad de luciferasa de Renilla de pRL.
- 15 La actividad de luciferasa de Renilla sirve como control de transfección. La actividad de luciferasa de luciérnaga sirve como lectura de ensayo. La actividad del ensayo de luciferasa se normaliza respecto de la actividad del ensayo de Renilla para cada muestra particular.
- 20 En la Tabla 3, mostrada a continuación, se presentan los valores IC_{50} (nM), así como la media de dos o más valores IC_{50} que fueron determinados en uno o más experimentos. El número de determinaciones ("n") se presenta dentro del paréntesis. Los valores individuales que dan lugar a los valores medios de IC_{50} se enumeran dentro de los paréntesis cuando n es 4 o inferior. También se presenta el error estándar (SE). El error estándar es la desviación estándar dividida por el número de determinaciones ("n").

25 Tabla 3

Ejemplo	IC_{50} (nM)
1	149 (n=4; 117, 133, 164, 183); SE=14,9
2	440 (n=3; 211, 504, 605); SE=118
3	403 (n=3; 286, 453, 471); SE=58,9
4	21,5 (n=3; 11,5, 26, 27); SE=5,0
5	30,8 (n=4; 22, 27, 30, 44); SE=4,71
6	244 (n=3; 186, 199, 348); SE=52,0
7	35,9 (n=21); SE=2,47
12	42,5 (n=2; 51,0, 34,0); SE=8,5
13	57,5 (n=2; 52,0, 63,0); SE=5,5

Ejemplo de Formulación 1

Preparación de un gel que contiene un 2% (p/p) de 2-[4-metil-2-(6-metil-piridin-2-il)-2H-pirazol-3-il]-tieno[3,2-c]piridina.

Materiales:

- 30 Etanol (200 Proof), USP (Aaper Alcohol and Chemical Co, KY)
- Propilen glicol (Pureza >99,5%), reactivo ACS (Sigma-Aldrich Chemicals, St. Louis, MO)
- Polietilen glicol (PEG 400), Peso molecular: 380-420 (Mallinkrodt Baker Inc., Phillipsburg, NJ)

ES 2 435 430 T3

Hidroxipropil celulosa (KLUCEL® HF) (Hercules Incorporated, Wilmington, DE)

Agua, Chromosolve® para HPLC (Sigma-Aldrich Chemicals, St. Louis, MO)

Alcohol bencílico (Pureza >99%) (Sigma-Aldrich Chemicals, St. Louis, MO)

Procedimiento:

- 5 Se transfirió 2-[4-metil-2-(6-metil-piridin-2-il)-2H-pirazol-3-il]-tieno[3,2-c]piridina (2 g) a una botella de vidrio de 150 mL. A continuación se añadió a la botella propilen glicol (30 g), polietilen glicol (30 g), agua (10 g) y alcohol bencílico (2 g) y etanol (20 g). La mezcla se agitó durante 2 horas. Entonces se añadió KLUCEL® HF (500 mg) a la disolución, seguido de etanol q.s. hasta 100 g. La disolución se agitó durante una noche para producir un gel que contenía un 2% (p/p) de 2-[4-metil-2-(6-metil-piridin-2-il)-2H-pirazol-3-il]-tieno[3,2-c]piridina.

10 Ejemplo de formulación 2

Preparación de un gel que contiene un 1% (p/p) de 2-[4-metil-2-(6-metil-piridin-2-il)-2H-pirazol-3-il]-tieno[3,2-c]piridina.

Materiales:

Etanol (200 Proof), USP (Aaper Alcohol and Chemical Co, KY)

- 15 Propilen glicol (Pureza >99,5%), reactivo ACS (Sigma-Aldrich Chemicals, St. Louis, MO)

Polietilen glicol (PEG 400), Peso molecular: 380-420 (Mallinkrodt Baker Inc., Phillipsburg, NJ)

Hidroxipropil celulosa (KLUCEL® HF) (Hercules Incorporated, Wilmington, DE)

Agua, Chromosolve® para HPLC (Sigma-Aldrich Chemicals, St. Louis, MO)

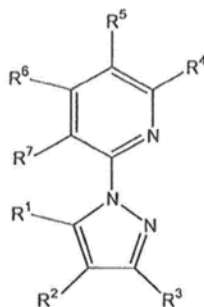
Alcohol bencílico (Pureza >99%) (Sigma-Aldrich Chemicals, St. Louis, MO)

20 Procedimiento:

- 25 Se transfirió 2-[4-metil-2-(6-metil-piridin-2-il)-2H-pirazol-3-il]-tieno[3,2-c]piridina (1 g) a una botella de vidrio de 150 mL. A continuación se añadió a la botella propilen glicol (30 g), polietilen glicol (30 g), agua (10 g) y alcohol bencílico (2 g) y etanol (20 g). La mezcla se agitó durante 30 minutos - 1 hora. Entonces se añadió KLUCEL® HF (500 mg) a la disolución, seguido de etanol q.s. hasta 100 g. La disolución se agitó durante una noche para producir un gel que contenía un 1% (p/p) de 2-[4-metil-2-(6-metil-piridin-2-il)-2H-pirazol-3-il]-tieno[3,2-c]piridina.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula I



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde:

5 R^1 es un tieno[3,2-c]piridinilo, un tieno[3,2-b]piridinilo, un tieno[2,3-c]piridinilo, o un tieno[2,3-b]piridinilo, cada uno de los cuales puede estar sustituido opcionalmente con entre uno y tres sustituyentes seleccionados cada uno de forma independiente del grupo que consiste en: alquilo C_1-C_3 , -(alquil- C_1-C_3)-S-(alquil- C_1-C_3), -S-alquil- C_1-C_3 , -(alquil- C_1-C_3)-O-(alquil- C_1-C_3), -O-alquil- C_1-C_3 , -C(O)O-alquil- C_1-C_3 , -C(O)O-H, -C(O)n $R^{30}R^{31}$, halo, -CN, -OH, donde R^{30} y R^{31} se seleccionan de forma independiente del grupo que consiste en: H, -alquil- C_1-C_3 -OH, alquilo C_1-C_3 , halo y -O-alquil- C_1-C_3 ;

10 R^2 y R^3 se seleccionan de forma independiente del grupo que consiste en: hidrógeno, alquilo C_1-C_3 , -(alquil- C_1-C_3)-S-(alquil- C_1-C_3), -S-alquil- C_1-C_3 , -(alquil- C_1-C_3)-O-(alquil- C_1-C_3), -O-alquil- C_1-C_3 , -C(O)O-alquil- C_1-C_3 , -C(O)O-H, -C(O)n $R^{30}R^{31}$, halo, -CN, -OH y un cicloalquilo C_3-C_6 , donde R^{30} y R^{31} se seleccionan de forma independiente del grupo que consiste en: H y -alquil- C_1-C_3 ;

15 ó R^2 y R^3 pueden ser considerados juntos para formar un heteroarilo de 5 ó 6 miembros, un fenilo, un cicloalquilo C_4-C_6 ó un heterocicloalquilo de 4-6 miembros, donde dicho cicloalquilo C_4-C_6 ó heterocicloalquilo de 4-6 miembros pueden estar sustituidos opcionalmente con entre uno y tres sustituyentes seleccionados de forma independiente entre halo, -OH, oxo y alquilo C_1-C_3 , donde dicho heteroarilo de 5 ó 6 miembros, o fenilo, pueden estar sustituidos opcionalmente con entre uno y tres sustituyentes seleccionados de forma independiente entre halo, -CN, -OH, -O-alquil- C_1-C_3 y alquilo C_1-C_3 ; y

20 R^4 , R^5 , R^6 y R^7 se seleccionan del grupo que consiste en: H, -OH, cicloalquilo- C_3 , alquilo C_1-C_3 , -(alquil- C_1-C_3)-S-(alquil- C_1-C_3), -S-alquil- C_1-C_3 , -(alquil- C_1-C_3)-O-(alquil- C_1-C_3), -O-alquil- C_1-C_3 , -C(O)O-alquil- C_1-C_3 , -C(O)O-H, -C(O)n $R^{30}R^{31}$, halo, -CN y -OH, donde R^{30} y R^{31} se seleccionan de forma independiente del grupo que consiste en: H, -alquil- C_1-C_3 , O-alquil- C_1-C_3 y halo.

25 2. El compuesto de la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde R^1 es un tieno[3,2-c]piridinilo o un tieno[2,3-c]piridinilo, que puede estar sustituido opcionalmente con entre uno y tres sustituyentes seleccionados de forma independiente del grupo que consiste en: -OH, alquilo C_1-C_3 , halo y -O-alquil- C_1-C_3 .

30 3. El compuesto de la reivindicación 1 ó 2, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde R^2 y R^3 se seleccionan de forma independiente del grupo que consiste en: hidrógeno, alquilo C_1-C_3 , -(alquil- C_1-C_3)-O-(alquil- C_1-C_3), -O-alquil- C_1-C_3 , -C(O)O-alquil- C_1-C_3 , -C(O)O-H, -C(O)n $R^{30}R^{31}$, halo, -CN, -OH, y un cicloalquilo C_3-C_6 , donde R^{30} y R^{31} se seleccionan de forma independiente del grupo que consiste en: H y alquilo C_1-C_3 .

4. El compuesto de la reivindicación 1, 2 ó 3, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde R^2 y R^3 se seleccionan de forma independiente del grupo que consiste en: hidrógeno y alquilo C_1-C_3 .

35 5. El compuesto de la reivindicación 1, 2, 3 ó 4, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde R^2 es alquilo C_1-C_3 y R^3 es hidrógeno.

6. El compuesto de la reivindicación 1, donde dicho compuesto se selecciona del grupo que consiste en:

2-[1-(6-metilpiridin-2-il)-1H-pirazol-5-il]tieno[3,2-c]piridina;

2-[3,4-dimetil-1-(6-metilpiridin-2-il)-1H-pirazol-5-il]tieno[3,2-c]piridina;

2-[3-metil-1-(6-metilpiridin-2-il)-1H-pirazol-5-il]tieno[3,2-c]piridina;

40 2-[3-etil-1-(6-metilpiridin-2-il)-1H-pirazol-5-il]tieno[3,2-c]piridina;

2-[4-etil-1-(6-metilpiridin-2-il)-1H-pirazol-5-il]tieno[3,2-c]piridina; y

sales farmacéuticamente aceptables de las mismas.

7. El compuesto de la reivindicación 1, donde dicho compuesto es 2-[4-metil-1-(6-metilpiridin-2-il)-1H-pirazol-5-il]tieno[3,2-c]piridina; o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

5 8. 2-[4-Metil-1-(6-metilpiridin-2-il)-1H-pirazol-5-il]tieno[3,2-c]piridina; o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para uso en la reducción de la cicatrización o en la inhibición de la formación de cicatrices.

9. Una composición farmacéutica que comprende: una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

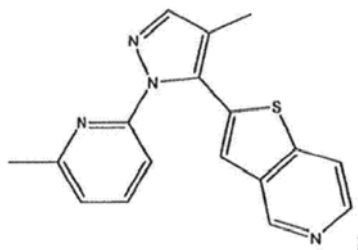
10 10. La composición farmacéutica de la reivindicación 9, donde dicho compuesto es 2-[4-metil-1-(6-metilpiridin-2-il)-1H-pirazol-5-il]tieno[3,2-c]piridina; o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

11. Una composición farmacéutica tópica que comprende: una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la reivindicación 1, 2, 3, 4, 5, 6 ó 7, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un excipiente farmacéuticamente aceptable adecuado para aplicación tópica.

15 12. El compuesto de la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en el tratamiento de una afección mediada por TGF β .

13. El compuesto de la reivindicación 12, donde dicha afección mediada por TGF β se selecciona del grupo que consiste en cáncer, cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de colon, cáncer de próstata, cáncer de ovario, cáncer de páncreas, melanoma, enfermedades fibróticas, glomerulonefritis, nefropatía diabética, fibrosis hepática, fibrosis pulmonar, hiperplasia arterial, restenosis, escleroderma y cicatrización dérmica.

20 14. El compuesto de la reivindicación 12 ó 13, donde dicho compuesto es



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

15. El compuesto de la reivindicación 8, donde dicha cicatriz es una cicatriz queloide o una cicatriz hipertrófica.