

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 442 945**

51 Int. Cl.:

C07D 213/75 (2006.01)

C07D 405/12 (2006.01)

C07D 405/14 (2006.01)

C07D 413/14 (2006.01)

A61K 31/4427 (2006.01)

A61K 31/44 (2006.01)

A61P 43/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.03.2009 E 09728176 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.11.2013 EP 2271621**

54 Título: **Derivados de piridilo como moduladores del CFTR**

30 Prioridad:

31.03.2008 US 40776 P

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

14.02.2014

73 Titular/es:

**VERTEX PHARMACEUTICALS INC. (100.0%)
50 Northern Avenue
Boston, MA 02210, US**

72 Inventor/es:

**HADIDA-RUAH, SARA;
MILLER, MARK;
ZHOU, JINGLAN;
BEAR, BRIAN y
GROOTENHUIS, PETER**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 442 945 T3

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

DESCRIPCIÓN

Derivados de piridilo como moduladores del CFTR

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a moduladores de transportadores de casetes de unión a ATP ("ABC") o a fragmentos de los mismos, que incluyen el regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística ("CFTR"), a composiciones de los mismos y a métodos con los mismos. La presente invención también se refiere a un compuesto para su uso en métodos de tratamiento de enfermedades mediadas por el transportador ABC usando tales moduladores.

Antecedentes de la invención

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

25 Los transportadores ABC regulan diversas funciones fisiológicas importantes en el organismo y proporcionan una defensa frente a compuestos medioambientales nocivos. Debido a esto, representan dianas farmacológicas potenciales importantes para el tratamiento de enfermedades asociadas con defectos en el transportador, la prevención del transporte de fármacos fuera de la célula diana y la intervención en otras enfermedades en las que la modulación de la actividad del transportador ABC pueda ser beneficiosa.

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

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

50 En los pacientes con fibrosis quística, las mutaciones en el CFTR expresadas de forma endógena en los epitelios respiratorios conducen a una secreción reducida de los aniones apicales que causa un desequilibrio en el transporte de iones y de fluidos. La disminución resultante en el transporte de aniones contribuye a la mayor acumulación de mucosidad en el pulmón y a las infecciones microbianas que conlleva que, en última instancia, provocan la muerte de los pacientes con FQ. Además de la enfermedad respiratoria, los pacientes con FQ, por lo general, padecen problemas gastrointestinales e insuficiencia pancreática que, de no tratarse, produce la muerte. Además, la mayoría de los varones con fibrosis quística son infértiles, y la fertilidad está disminuida entre las mujeres con fibrosis quística. Al contrario que los graves efectos de las dos copias del gen asociado a la FQ, los individuos con una sola copia del gen asociado a la FQ presentan una mayor resistencia al cólera y a la deshidratación como consecuencia de la diarrea - lo que quizá explica la frecuencia relativamente alta del gen de la FQ en la población.

60 El análisis de la secuencia del gen del CFTR de cromosomas de la FQ ha puesto de manifiesto diversas mutaciones causantes de la enfermedad (Cutting, G. R. *et al.*, (1990) *Nature* 346: 366-369; Dean, M. *et al.*, (1990) *Cell* 61: 863-870; y Kerem, B-S. *et al.*, (1989) *Science* 245: 1073-1080; Kerem, B-S *et al.*, (1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU.* 87: 8447-8451). Hasta la fecha, se han identificado > 1.000 mutaciones causantes de la enfermedad en el gen de la FQ (<http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/>). La mutación de mayor prevalencia es una supresión de la fenilalanina de la posición 508 de la secuencia de aminoácidos del CFTR, y se denomina comúnmente $\Delta F508$ -CFTR. Esta mutación

aparece en aproximadamente un 70 % de los casos de fibrosis quística y está asociada con una grave enfermedad.

5 La supresión del resto 508 de $\Delta F508$ -CFTR impide que la proteína naciente se pliegue de forma correcta. Esto da como resultado la incapacidad de la proteína mutante para salir del retículo endoplasmático (RE), y circular hacia la membrana plasmática. Como resultado de ello, el número de canales presentes en la membrana es mucho menor que el observado en las células que expresan el CFTR de tipo silvestre. Además de la alteración de la circulación, la mutación provoca la apertura defectuosa del canal. En conjunto, el número reducido de canales en la membrana y la apertura defectuosa conducen al transporte reducido de aniones a través de los epitelios, lo que conduce a un transporte de iones y de fluidos defectuoso. (Quinton, P. M. (1990), *FASEB J.* 4: 2709-2727). Sin embargo, los estudios han demostrado que las cantidades reducidas de $\Delta F508$ -CFTR en la membrana son funcionales, aunque menos que el CFTR de tipo silvestre. (Dalemans *et al.* (1991), *Nature Lond.* 354: 526-528; Denning *et al.*, *supra*; Pasyk y Foskett (1995), *J. Cell. Biochem.* 270: 12347-50). Además de $\Delta F508$ -CFTR, se podrían regular positiva o negativamente otras mutaciones causantes de la enfermedad en el CFTR que den como resultado la circulación, síntesis y/o apertura del canal defectuosas para alterar la secreción de aniones, y modificar la progresión y/o 15 la gravedad de la enfermedad.

Aunque el CFTR transporta diversas moléculas además de aniones, es obvio que esta función (el transporte de aniones) representa un elemento en un mecanismo importante del transporte de iones y de agua a través del epitelio. Los otros elementos incluyen el canal de Na^+ epitelial, ENaC, el cotransportador de $\text{Na}^+/2\text{Cl}^-/\text{K}^+$, la bomba de Na^+/K^+ -ATPasa y los canales de K^+ de la membrana basolateral, que son responsables de la captación de cloruro en la célula. 20

Estos elementos trabajan conjuntamente para conseguir un transporte direccional a través del epitelio mediante su expresión y localización selectiva dentro de la célula. La absorción de cloruro tiene lugar por la actividad coordinada de ENaC y del CFTR presentes en la membrana apical y la bomba de Na^+/K^+ -ATPasa y los canales de Cl^- expresados en la superficie basolateral de la célula. El transporte activo secundario del cloruro desde el lado luminal conduce a la acumulación de cloruro intracelular, que después puede abandonar de forma pasiva la célula mediante los canales de Cl^- , dando como resultado un transporte vectorial. La disposición del cotransportador de $\text{Na}^+/2\text{Cl}^-/\text{K}^+$, la bomba de Na^+/K^+ -ATPasa y los canales de K^+ de la membrana basolateral en la superficie basolateral y del CFTR en el lado luminal coordinan la secreción de cloruro mediante el CFTR en el lado luminal. Debido a que el agua probablemente nunca se transporta por sí misma de forma activa, su flujo a través de los epitelios depende de diminutos gradientes osmóticos transepiteliales generados por el flujo masivo de sodio y de cloruro. 25

Además de la fibrosis quística, la modulación de la actividad del CFTR puede ser beneficiosa para otras enfermedades no causadas directamente por mutaciones en el CFTR, tales como enfermedades secretoras y otras enfermedades del plegamiento de proteínas mediadas por el CFTR. Estas incluyen, pero sin limitación, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), la sequedad ocular y el síndrome de Sjögren. 30

La EPOC se caracteriza por una limitación del flujo de aire que es progresiva y no totalmente reversible. La limitación del flujo de aire se debe a la hipersecreción de mucosidad, enfisema y bronquiolitis. Los activadores del CFTR mutante o de tipo silvestre ofrecen un posible tratamiento de la hipersecreción de mucosidad y del aclaramiento mucociliar alterado que es común en la EPOC. En concreto, el aumento de la secreción de aniones a través del CFTR puede facilitar el transporte de fluidos en el líquido de la superficie de las vías respiratorias para hidratar la mucosidad y optimizar la viscosidad del fluido periciliar. Esto conduciría a un mayor aclaramiento mucociliar y a una reducción de los síntomas asociados con la EPOC. La enfermedad de sequedad ocular se caracteriza por una disminución en la producción acuosa de lágrimas y unos perfiles anómalos de lípidos, proteínas y mucina en la película lacrimonal. Existen muchas causas de la sequedad ocular, algunas de las cuales incluyen la edad, la cirugía ocular de Lasik, artritis, medicaciones, quemaduras químicas/térmicas, alergias y enfermedades, tales como la fibrosis quística y el síndrome de Sjögren. El aumento de la secreción de aniones a través del CFTR podría aumentar el transporte de fluidos desde las células endoteliales corneales y las glándulas secretoras que rodean el ojo para aumentar la hidratación corneal. Esto ayudaría a aliviar los síntomas asociados con la enfermedad de sequedad ocular. El síndrome de Sjögren es una enfermedad autoinmune en la que el sistema inmune ataca a las glándulas que producen humedad por todo el organismo, incluyendo el ojo; la boca, la piel, el tejido respiratorio, el hígado, la vagina y los intestinos. Los síntomas incluyen, sequedad ocular, de boca y vaginal, así como enfermedad pulmonar. La enfermedad también está asociada con artritis reumatoide, lupus sistémico, esclerosis sistémica y polimiositis/dermatomiositis. Se cree que la circulación defectuosa de proteínas causa la enfermedad, por lo que las opciones de tratamiento son limitadas. Los moduladores de la actividad del CFTR pueden hidratar los diversos órganos afectados por la enfermedad y ayudar a elevar los síntomas asociados. 40 45 50 55

60 Como se ha analizado anteriormente, se cree que la supresión del resto 508 en $\Delta F508$ -CFTR impide que la proteína naciente se pliegue de forma correcta, generando la incapacidad de esta proteína mutante para salir del RE y circular hacia la membrana plasmática. Como resultado de ello, hay presentes cantidades insuficientes de la proteína madura en la membrana plasmática, y el transporte de cloruro dentro de los tejidos epiteliales se reduce de forma significativa. De hecho, se ha demostrado que este fenómeno celular de procesamiento del RE defectuoso de los transportadores ABC por la maquinaria del RE es la base subyacente no solo para la enfermedad de la FQ, sino para un amplio intervalo de otras enfermedades aisladas y hereditarias. Las dos formas en las que la maquinaria del 65

- RE puede funcionar mal es por la pérdida del acoplamiento con la exportación del RE de las proteínas conduciendo su degradación, o por la acumulación del RE de estas proteínas defectuosas/plegadas de forma errónea [Aridor M. *et al.*, *Nature Med.*, 5 (7), p. 745-751 (1999); Shastr y B. S., *et al.*, *Neurochem. International*, 43, p. 1-7 (2003); Rutishauser, J., *et al.*, *Swiss Med Wkly*, 132, p. 211-222 (2002); Morello, J. P. *et al.*, *TIPS*, 21, p. 466-469 (2000);
- 5 Bross P., *et al.*, *Human Mut.*, 14, p. 186-198 (1999)]. Las enfermedades asociadas con la primera clase de mal funcionamiento del RE son la fibrosis quística (debida a $\Delta F508$ -CFTR plegada de forma errónea, como se ha analizado anteriormente), el enfisema hereditario (debido a la α_1 -antitripsina; variantes no Piz), la hemocromatosis hereditaria, deficiencias de coagulación-fibrinólisis tales como la deficiencia de proteína C, el angioedema hereditario de tipo 1, deficiencias de procesamiento de lípidos tales como hipercolesterolemia familiar, quilomicronemia de tipo
- 10 1, abetalipoproteinemia, enfermedades de almacenamiento lisosomal tales como la enfermedad de la célula I/pseudo-polidistofia de Hurler, mucopolisacaridosis (debida a enzimas de procesamiento Lisosomal), Sandhof/Tay-Sachs (debido a β -hexosaminidasa), Crigler-Najjar de tipo II (debida a la UDP-glucuronil-siálico-transferasa), poliendocrinopatía/hiperinsulemia, diabetes mellitus (debida al receptor de insulina), enanismo de Laron (debido al receptor de la hormona de crecimiento), deficiencia de mieloperoxidasa, hipoparatiroidismo primario (debido a la hormona preproparatiroidea), melanoma (debido a la tirosinasa). Las enfermedades asociadas con la última clase de mal funcionamiento del RE son la glucanosis CDG de tipo 1, el enfisema hereditario (debido a la α_1 -antitripsina (variante PIZ), hipertiroidismo congénito, osteogénesis imperfecta (debida al procolágeno de tipo I, II, IV), hipofibrinogenemia hereditaria (debida al fibrinógeno), deficiencia de ACT (debida a la α_1 -antiquimotripsina), diabetes insípida (DI), DI neurofiseal (debido a la hormona vasopresina/receptor de V2), DI nefrogénica (debida a la acuaporina II), síndrome de Charcot-Marie Tooth (debido la proteína de mielina periférica 22), enfermedad de Pelizaeus-Merzbacher, enfermedades neurodegenerativas tales como la enfermedad de Alzheimer (debida a la β APP y a las presenilinas), enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica, parálisis supranuclear progresiva, enfermedad de Pick, diversos trastornos neurológicos de la poliglutamina tales como Huntington, ataxia espinocerebelosa de tipo I, atrofia muscular espinal y bulbar, atrofia dentatorrubro pálido-louisiana, distrofia miotónica,
- 20 así como encefalopatías espongiiformes tales como la enfermedad hereditaria de Creutzfeldt-Jakob (debida a un defecto en el procesamiento de la proteína priónica), la enfermedad de Fabry (debida a la α -galactosidasa A lisosomal), el Síndrome de Strausler-Scheinker, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), enfermedad de sequedad ocular y síndrome de Sjögren.
- 25
- 30 Además de la regulación positiva de la actividad del CFTR, la reducción de la secreción de aniones por moduladores del CFTR puede ser beneficiosa para el tratamiento de diarreas secretoras, en las que el transporte de agua epitelial aumenta de forma espectacular como resultado del transporte de cloruro activado por secretores. El mecanismo implica la elevación del cAMP y la estimulación del CFTR.
- 35 Aunque existen numerosas causas de diarrea, las consecuencias principales de las enfermedades diarreicas, que se producen como resultado de un transporte de cloruro excesivo, son comunes a todas, e incluyen deshidratación, acidosis, alteraciones del crecimiento y muerte.
- 40 Las diarreas agudas y crónicas representan un problema médico muy importante en muchas zonas del mundo. La diarrea es tanto un factor significativo en la malnutrición como la principal causa de muerte (5.000.000 muertes/año) en niños menores de cinco años de edad.
- 45 Las diarreas secretoras también son una afección peligrosa en pacientes con el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) y con la enfermedad inflamatoria intestinal (EII) crónica. Cada año, 16 millones de personas que viajan a países en vías de desarrollo desde naciones industrializadas desarrollan diarrea, variando la gravedad y el número de casos de diarrea en función del país y de la zona del desplazamiento.
- 50 La diarrea en los animales de granja y mascotas tales como vacas, cerdos y caballos, ovejas, cabras, gatos y perros, también conocida como disentería, es una causa principal de mortalidad en estos animales. La diarrea puede ser el resultado de cualquier transición principal, tal como el destete o el movimiento físico, así como la respuesta a diversas infecciones bacterianas o víricas y, por lo general, se produce en las primeras horas de vida del animal.
- 55 La bacteria más común que causa diarrea es la *E. coli* enterotoxogénica (ETEC) que tiene el antígeno de pilus K99. Las causas comunes de diarrea vírica incluyen rotavirus y coronavirus. Otros agentes infecciosos incluyen cryptosporidium, giardia lamblia y salmonella, entre otros.
- 60 Los síntomas de la infección por rotavirus incluyen la excreción de heces acuosas, deshidratación y debilidad. Los coronavirus causan una enfermedad más grave en los animales recién nacidos, y tiene una mayor tasa de mortalidad que la infección por rotavirus. Sin embargo, a menudo, un animal joven se puede infectar con más de un virus o con una combinación de microorganismos víricos y bacterianos al mismo tiempo. Esto aumenta drásticamente la gravedad de la enfermedad.

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

- 5 Existe la necesidad de métodos para el tratamiento de enfermedades mediadas por el transportador ABC usando tales moduladores de la actividad del transportador ABC.

Existe la necesidad de métodos para la modulación de una actividad del transportador ABC en una membrana celular *ex vivo* de un mamífero.

- 10 Existe la necesidad de moduladores de la actividad del CFTR que se puedan usar para modular la actividad del CFTR en la membrana celular de un mamífero.

- 15 Existe la necesidad de métodos para el tratamiento de las enfermedades mediadas por el CFTR usando tales moduladores de la actividad del CFTR.

Existe la necesidad de métodos para la modulación de la actividad del CFTR en una membrana celular *ex vivo* de un mamífero.

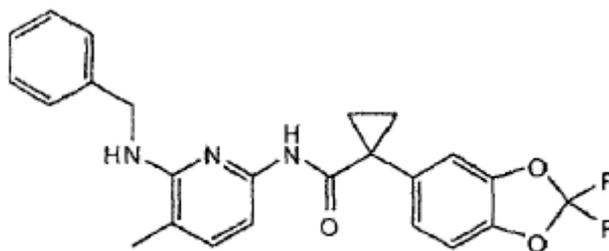
- 20 El documento WO 2007/056341 A1 describe moduladores heterocíclicos de transportadores de casetes de unión a ATP que incluyen el regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística ("CFTR"). Está sustituida la posición 5 o 6 del anillo de piridilo de estos compuestos. El documento WO 2005/075435 A1 describe moduladores de los transportadores de casetes de unión a ATP que incluyen el regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística. Lo mismo se aplica al documento WO 2008/141119 A2.

25

Resumen de la invención

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

30



I

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que R^N. La invención se dirige además a una composición farmacéutica que comprende el compuesto anteriormente mencionado y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

35

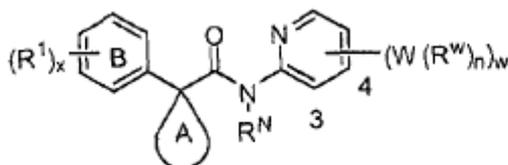
Los compuestos y las composiciones farmacéuticamente aceptables son útiles para el tratamiento o la disminución de la gravedad de diversas enfermedades, trastornos o afecciones, que incluyen, pero sin limitación, fibrosis quística, enfisema hereditario, hemocromatosis hereditaria, deficiencias de la coagulación-fibrinólisis tales como la deficiencia de proteína C, angioedema hereditario de tipo 1, deficiencias en el procesamiento de lípidos tales como hipercolesterolemia familiar, quilomicronemia de tipo 1, abetalipoproteinemia, enfermedades del almacenamiento lisosomal tales como la enfermedad de la célula I/pseudo-polidistofia de Hurler, mucopolisacaridosis, Sandhof/Tay-Sachs, Crigler-Najjar de tipo II, poliendocrinopatía/hiperinsulinemia, diabetes mellitus, enanismo de Laron, deficiencia de mieloperoxidasa, hipoparatiroidismo primario, melanoma, glucanosis CDG de tipo 1, enfisema hereditario, hipertiroidismo congénito, osteogénesis imperfecta, hipofibrinogenemia hereditaria, deficiencia de ACT, diabetes insípida (DI), DI neurofiseal, DI nefrogénica, síndrome de Charcot-Marie Tooth, enfermedad de Pelizaeus-Merzbacher, enfermedades neurodegenerativas tales como la enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica, parálisis supranuclear progresiva, enfermedad de Pick, varios trastornos neurológicos de la poliglutamina tales como Huntington, ataxia espinocerebelosa de tipo I, atrofia muscular espinal y bulbar, atrofia dentatorrubro pálido-luisiana y distrofia miotónica, así como encefalopatías espongiiformes tales como la enfermedad hereditaria de Creutzfeldt-Jakob, enfermedad de Fabry y síndrome de Geustmann-Straussler-Scheinker, EPOC, enfermedad de sequedad ocular o síndrome de Sjögren.

50

Descripción detallada de la invención

Descripción general de los compuestos de la invención:

- 5 Los compuestos reivindicados son útiles como moduladores de la actividad del transportador ABC, y pertenecen a la fórmula general I:



I

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

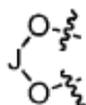
- 10 R^N es H, alquilo, arilo, heteroarilo, aralquilo, cicloalquilo o heterocicloalquilo;

A es un anillo monocíclico de 3-7 miembros opcionalmente sustituido;

- 15 B está opcionalmente condensado a un anillo de 5-7 miembros seleccionado del grupo que consiste en cicloalifático, arilo, heterocíclico y heteroarilo;

R^1 es halo, alquilo, OH, alcoxi, tioalquilo, trifluorometoxi; o

- 20 dos R^1 en átomos adyacentes que, tomados conjuntamente, forman:



en el que J se selecciona del grupo que consiste en CH_2 , CF_2 o $C(CH_3)_2$;

- 25 W es, de manera independiente, un enlace o una cadena alquilideno (C_1-C_6) opcionalmente sustituida, en la que hasta dos unidades de metileno de W están reemplazadas, de manera independiente, por $-CO-$, $-O-$, $-S-$, $-SO_2-$ o $-NR^2-$;

- 30 R' es, de manera independiente, H, alquilo, arilo, heteroarilo, aralquilo, cicloalquilo o heterocicloalquilo;

- 35 R^w es, de manera independiente, H, halo, CN, NO_2 , $N(R)_2$, CF_3 , OCF_3 , OH, OR, $C(O)N(R)_2$, $C(O)R$, CO_2R , $-O(\text{alquiliden}(C_1-C_6))-OR$, $O(\text{alquiliden}(C_1-C_6))-N(R)_2$, $-O(\text{alquiliden}(C_1-C_6))\text{-heterocicloalquilo}$ o un alifático, cicloalifático, arilo, ariloxi, heterocíclico o heteroarilo opcionalmente sustituido, en el que, cuando está sustituido, R^w está sustituido con hasta dos R^2 ;

- 40 R^2 es halo, CN, NO_2 , CF_3 , OCF_3 , OR, $OC(O)R$, $OC(O)N(R)_2$, SR, $S(O)R$, SO_2R , $SO_2N(R)_2$, SO_3R , $C(O)R$, CO_2R , $C(O)N(R)_2$, $N(R)_2$, $NRC(O)R$, $NRCO_2R$, $NRC(O)N(R)_2$, $NRSO_2R$, $B(OH)_2$ o $NRSO_2N(R)_2$;

- R es, de manera independiente, H, alquilo, cicloalquilo, heterocíclico, arilo o heteroarilo;

- 40 n es 1 o 2;

w es un número entero de 0 a 4 ambos inclusive; y

- 45 x es un número entero de 0 a 5 ambos inclusive; siempre que cuando W sea un enlace y R^w sea cicloalifático, heterocicloalifático, arilo o heteroarilo, $-W-R^w$ estará unido a la posición 3 o 4 del anillo piridilo.

Compuestos y definiciones

- 50 Como se usan en el presente documento, las siguientes definiciones se aplicarán a menos que se indique lo contrario.

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

El término "CFTR", como se usa en el presente documento, significa regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística o a una mutación del mismo capaz de una actividad reguladora, que incluye, pero sin limitación, $\Delta F508$ CFTR y G551D CFTR (véase, por ejemplo, <http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/>, para mutaciones de CFTR).
 10

El término "modulación", como se usa en el presente documento, significa aumentar o disminuir en una cantidad medible.

Para los fines de la presente invención, los elementos químicos se identifican de acuerdo con la Tabla Periódica de los Elementos, versión CAS, "Handbook of Chemistry and Physics", LXXV Ed. Además, los principios generales de la química orgánica se describen en "Organic Chemistry", Thomas Sorrell, University Science Books, Sausalito: 1999, y en "March's Advanced Organic Chemistry", V Ed., Ed.: Smith, M. B. y March, J., John Wiley & Sons, Nueva York: 2001, cuyo contenido se incorpora en el presente documento por referencia.
 15
 20

Como se describe en el presente documento, los compuestos de fórmula I pueden estar opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes, como los que se ilustran en general anteriormente, o como se ejemplifica mediante las clases, subclases y especies de la invención. Se apreciará que la expresión "opcionalmente sustituido" se usa indistintamente con la expresión "sustituido o no sustituido". En general, el término "sustituido", de manera independiente, de si está precedido por el término "opcionalmente" o no, se refiere a la sustitución de radicales hidrógeno en una estructura dada con el radical de un sustituyente especificado. A menos que se indique lo contrario, un grupo opcionalmente sustituido puede tener un sustituyente en cada posición sustituible del grupo, y cuando se puede sustituir más de una posición de cualquier estructura dada con más de un sustituyente seleccionado de un grupo especificado, el sustituyente puede ser bien igual o diferente en cada posición. Las combinaciones de sustituyentes previstas por la presente invención son preferentemente aquellas que resultan en la formación de compuestos estables o químicamente viables. El término "estable", como se usa en el presente documento, se refiere a compuestos que no se alteran sustancialmente cuando se someten a condiciones que permiten su producción, detección y, preferentemente, su recuperación, purificación y uso para uno o más de los propósitos descritos en el presente documento. En algunas realizaciones, un compuesto estable o un compuesto químicamente viable es aquel que no se altera sustancialmente cuando se mantiene a una temperatura de 40 °C o inferior, en ausencia de humedad u otras condiciones químicamente reactivas, durante al menos una semana.
 25
 30
 35

El término "alifático" o la expresión "grupo alifático", como se usa en el presente documento, significa una cadena de hidrocarburo lineal (es decir, no ramificada) o ramificada, sustituida o no sustituida que está completamente saturada, o que contiene una o más unidades de insaturación, o un hidrocarburo monocíclico o hidrocarburo bicíclico que está completamente saturado, o que contiene una o más unidades de insaturación, pero que no es aromático (también denominado en el presente documento "carbociclo" o "cicloalifático"), que tiene un solo punto de unión con el resto de la molécula. A menos que se especifique lo contrario, los grupos alifáticos contienen 1-20 átomos de carbono alifáticos. En algunas realizaciones, los grupos alifáticos contienen 1-10 átomos de carbono alifáticos. En otras realizaciones, los grupos alifáticos contienen 1-8 átomos de carbono alifáticos. En otras realizaciones más, los grupos alifáticos contienen 1-6 átomos de carbono alifáticos, y en otras realizaciones más, los grupos alifáticos contienen 1-4 átomos de carbono alifáticos. En algunas realizaciones, "cicloalifático" (o "carbociclo") se refiere a un hidrocarburo C₃-C₈ monocíclico o hidrocarburo C₈-C₁₂ bicíclico que está completamente saturado o que contiene una o más unidades de insaturación, pero que no es aromático, que tiene un solo punto de unión con el resto de la molécula en la que cualquier anillo individual de dicho sistema de anillo bicíclico tiene 3-7 miembros. Los grupos alifáticos adecuados incluyen, pero sin limitación, grupos alquilo, alquenilo, alquinilo lineales o ramificados, sustituidos o no sustituidos, y sus híbridos tales como (cicloalquil)alquilo, (cicloalquenil)alquilo o (cicloalquil)alquenilo.
 40
 45
 50

El término "heteroalifático", como se usa en el presente documento, significa grupos alifáticos en los que uno o dos átomos de carbono están reemplazados, de manera independiente, por uno o más de oxígeno, azufre, nitrógeno, fósforo o silicio. Los grupos heteroalifáticos pueden estar sustituidos o no sustituidos, ramificados o no ramificados, cíclicos o acíclicos, e incluyen grupos "heterociclos", "heterociclilos", "heterocicloalifáticos" o "heterocíclicos".
 55

Los términos "heterociclo", "heterociclilo", "heterocicloalifático" o "heterocíclico", como se usan en el presente documento, significan sistemas de anillos monocíclicos, bicíclicos o tricíclicos no aromáticos, en los que uno o una pluralidad de miembros de anillo es un heteroátomo seleccionado de manera independiente. En algunas realizaciones, el grupo "heterociclo", "heterociclilo", "heterocicloalifático" o "heterocíclico" tiene de tres a catorce miembros por anillo, siendo uno o más miembros del anillo un heteroátomo seleccionado, de manera independiente, del grupo que consiste en oxígeno, azufre, nitrógeno y fósforo, y cada anillo del sistema contiene de 3 a 7 miembros por anillo.
 60
 65

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

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

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

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

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

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

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

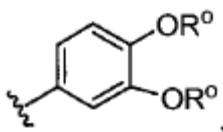
50 Un grupo alifático o heteroalifático, o un anillo heterocíclico no aromático pueden contener uno o más sustituyentes. Los sustituyentes adecuados en el carbono saturado de un grupo alifático o heteroalifático, o de un anillo heterocíclico no aromático se seleccionan del grupo que consiste en los enumerados anteriormente para el carbono insaturado de un grupo arilo o heteroarilo, y además incluyen los siguientes: =O, =S, =NNHR^{*}, =NN(R^{*})₂, =NNHC(O)R^{*}, =NNHCO₂(alquilo), =NNHSO₂(alquilo) y =NR^{*}, donde cada R^{*} se selecciona, de manera independiente, del grupo que consiste en hidrógeno y un grupo alifático C₁₋₆ opcionalmente sustituido. Los sustituyentes opcionales en el grupo alifático de R^{*} se seleccionan del grupo que consiste en NH₂, NH(alifático C₁₋₄), N(alifático C₁₋₄)₂, halógeno, alifático C₁₋₄, OH, O(alifático C₁₋₄), NO₂, CN, CO₂H, CO₂(alifático C₁₋₄), O(haloalifático C₁₋₄) y halo(alifático C₁₋₄), en los que ninguno de los grupos alifáticos C₁₋₄ anteriores de R^{*} está sustituido.

60 Los sustituyentes opcionales en el nitrógeno de un anillo heterocíclico no aromático se seleccionan del grupo que consiste en -R⁺, -N(R⁺)₂, -C(O)R⁺, -CO₂R⁺, -C(O)C(O)R⁺, -C(O)CH₂C(O)R⁺, -SO₂R⁺, -SO₂N(R⁺)₂, -C(=S)N(R⁺)₂, -C(=NH)-N(R⁺)₂ y -NR⁺SO₂R⁺, en los que R⁺ es hidrógeno, un alifático C₁₋₆ opcionalmente sustituido, fenilo opcionalmente sustituido, -O(Ph) opcionalmente sustituido, -CH₂(Ph) opcionalmente sustituido, -(CH₂)₁₋₂(Ph) opcionalmente sustituido; -CH=CH(Ph) opcionalmente sustituido; o un anillo heteroarilo o heterocíclico de 5-6 miembros no sustituido que tiene de uno a cuatro heteroátomos seleccionados, de manera independiente, del grupo que consiste en oxígeno, nitrógeno y azufre, o, a pesar de la definición anterior, dos apariciones independientes de R⁺, en el mismo sustituyente o sustituyentes diferentes, tomadas junto con el/los átomo/s al/ a los que cada grupo R⁺ está enlazado forman un anillo cicloalquilo, heterociclilo, arilo o heteroarilo de 3-8 miembros que tiene 0-3 heteroátomos seleccionados de manera independiente del grupo que consiste en nitrógeno, oxígeno y azufre. Los

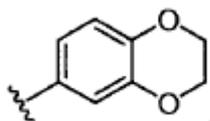
sustituyentes opcionales en el grupo alifático o el anillo fenilo de R^+ se seleccionan del grupo que consiste en NH_2 , NH (alifático C_{1-4}), N (alifático C_{1-4})₂, halógeno, alifático C_{1-4} , OH , O (alifático C_{1-4}), NO_2 , CN , CO_2H , CO_2 (alifático C_{1-4}), O (haloalifático C_{1-4}) y halo(alifático C_{1-4}), en los que ninguno de los grupos alifáticos C_{1-4} anteriores de R^+ está sustituido.

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

15 Como se ha detallado anteriormente, en algunas realizaciones, se toman dos apariciones independientes de R^q (OR^+ o cualquier otra variable definida de manera similar en el presente documento) junto con el/los átomo/s al/a los que cada variable está unida para formar un anillo cicloalquilo, heterociclilo, arilo o heteroarilo de 3-8-miembros que tiene 0-3 heteroátomos seleccionados de manera independiente del grupo que consiste en nitrógeno, oxígeno y azufre. Los anillos ilustrativos que se forman cuando se toman dos apariciones independientes de R^q (o R^+ , o cualquier otra variable definida de manera similar en el presente documento) junto con el/los átomo/s al/a los que cada variable está unida incluyen, pero sin limitación, lo siguiente: a) dos apariciones independientes de R^q (o R^+ , o cualquier otra variable definida de manera similar en el presente documento) que están unidas al mismo átomo y se toman junto con ese átomo para formar un anillo, por ejemplo, $N(R^q)_2$, cuando ambas apariciones de R^q se toman junto con el átomo de nitrógeno para formar un grupo piperidin-1-ilo, piperazin-1-ilo o morfolin-4-ilo; y b) dos apariciones independientes de R^q (o R^+ , o cualquier otra variable definida de manera similar en el presente documento) que están unidas a diferentes átomos y se toman junto con ambos de estos átomos para formar un anillo, por ejemplo, cuando un grupo fenilo está sustituido con dos apariciones de OR^q



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



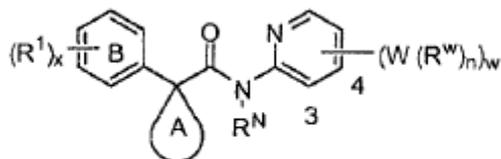
30 Se apreciará que es posible formar otros diversos anillos cuando se toman dos apariciones independientes de R^q (o R^+ , o cualquier otra variable definida de manera similar en el presente documento) junto con el/los átomo/s al/a los que cada variable está unida, y que los ejemplos detallados anteriormente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

35 A menos que se indique lo contrario, las estructuras representadas en el presente documento también pretenden incluir todas las formas isoméricas (por ejemplo, enantioméricas, diastereoméricas y geométricas (o conformacionales)) de la estructura; por ejemplo, las configuraciones R y S para cada centro asimétrico, los isómeros de doble enlace (Z) y (E), y los isómeros conformacionales (Z) y (E). Por lo tanto, los isómeros estereoquímicos individuales, así como las mezclas enantioméricas, diastereoméricas y geométricas (o conformacionales) de los presentes compuestos están dentro del alcance de la invención. A menos que se indique lo contrario, todas las formas tautoméricas de los compuestos de la invención están dentro del alcance de la invención.

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

Descripción de compuestos ilustrativos:

Un compuesto ilustrativo de fórmula I:



I

una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que:

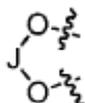
R^N es H, alquilo, arilo, heteroarilo, aralquilo, cicloalquilo o heterocicloalquilo;

5 A es un anillo monocíclico de 3-7 miembros opcionalmente sustituido;

B está opcionalmente condensado a un anillo de 5-7 miembros seleccionado del grupo que consiste en cicloalifático, arilo, heterocíclico y heteroarilo;

10 R^1 es halo, alquilo, OH, alcoxi, tioalquilo, trifluorometoxi; o

dos R^1 en átomos adyacentes que, tomados conjuntamente, forman:



15 en el que J se selecciona del grupo que consiste en CH_2 , CF_2 o $C(CH_3)_2$;

W es, de manera independiente, un enlace o una cadena alquilideno (C_1-C_6) opcionalmente sustituida, en el que hasta dos unidades de metileno de W están reemplazadas, de manera independiente, por $-CO-$, $-O-$, $-S-$, $-SO_2-$ o $-NR^1-$;

20 R' es, de manera independiente, H, alquilo, arilo, heteroarilo, aralquilo, cicloalquilo o heterocíclico;

R^W es, de manera independiente, H, halo, CN, NO_2 , $N(R)_2$, CF_3 , OCF_3 , OH, OR, $C(O)R$, CO_2R , $C(O)N(R)_2$, $-O(\text{alquilideno}(C_1-C_6))-OR$, $O(\text{alquilideno}(C_1-C_6))-N(R)_2$, $-O(\text{alquilideno}(C_1-C_6))\text{-heterocíclico}$ o un alifático, cicloalifático, arilo, ariloxi, heterocíclico o heteroarilo opcionalmente sustituido, en el que, cuando está sustituido, R^W está sustituido con hasta dos R^2 ;

R^2 es halo, CN, NO_2 , CF_3 , OCF_3 , OR, $OC(O)R$, $OC(O)N(R)_2$, SR, $S(O)R$, SO_2R , $SO_2N(R)_2$, SO_3R , $C(O)R$, CO_2R , $C(O)N(R)_2$, $N(R)_2$, $NRC(O)R$, $NRCO_2R$, $NRC(O)N(R)_2$, $NRSO_2R$, $B(OH)_2$ o $NRSO_2N(R)_2$;

30 R es, de manera independiente, H, alquilo, cicloalquilo, heterocíclico, arilo o heteroarilo;

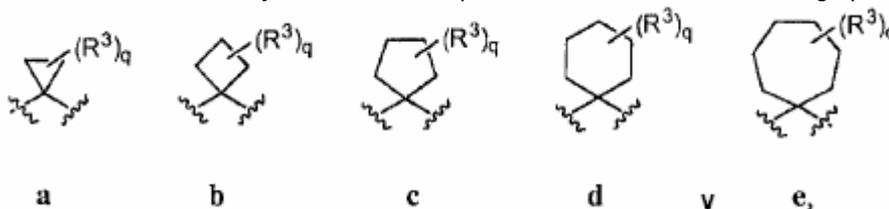
n es 1 o 2;

35 w es un número entero de 0 a 4 ambos inclusive; y

x es un número entero de 0 a 5 ambos inclusive;

40 siempre que cuando W sea un enlace y R^W sea cicloalifático, heterocicloalifático, arilo o heteroarilo, $W-R^W$ estará unido a la posición 3 o 4 del anillo piridilo.

En compuestos ilustrativos de fórmula I y las definiciones que conlleva, A se selecciona del grupo que consiste en:

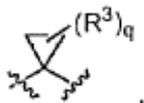


en los que

45

R^3 es alquilo, aralquilo, arilo o heteroarilo; y

q es un número entero de 0 a 4 ambos inclusive. En una realización adicional, A es



5 En una realización adicional, A es



Otro compuesto ilustrativo se refiere a un compuesto de fórmula I y las definiciones que conlleva, en el que x es 2.

10 Otro compuesto ilustrativo se refiere a un compuesto de fórmula I y las definiciones que conlleva, en el que R^1 es halo. En otra realización, R^1 es cloro. En otra realización, R^1 es alquilo. En otra realización, R^1 es metilo. En otra realización, R^1 es OH. En otra realización, R^1 es alcoxi. En una realización adicional, R^1 es metoxi. En otra realización, R^1 es tialquilo. En otro compuesto ilustrativo de fórmula I, R^1 es tiometilo. En otro compuesto ilustrativo de fórmula I, R^1 es trifluorometoxi.

15 Otro compuesto ilustrativo de fórmula I se refiere a un compuesto de fórmula I y las definiciones que conlleva, en el que dos R^1 de átomos adyacentes, tomados conjuntamente, forman



en el que J se selecciona del grupo que consiste en CH_2 , CF_2 o $C(CH_3)_2$. En una realización adicional, J es CH_2 . En una realización adicional, J es CF_2 .

20 Otro compuesto ilustrativo de fórmula I se refiere a un compuesto de fórmula I y las definiciones que conlleva, en el que R^N es H o alquilo. En una realización adicional, R^N es H. En una realización adicional, R^N es alquilo.

25 Otro compuesto ilustrativo de fórmula I se refiere a un compuesto de fórmula I y las definiciones que conlleva, en el que w es 0. En un compuesto ilustrativo adicional de fórmula I, w es 1. En un compuesto ilustrativo adicional de fórmula I, w es 2.

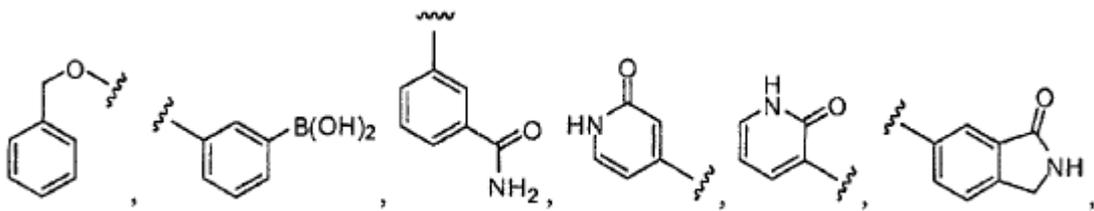
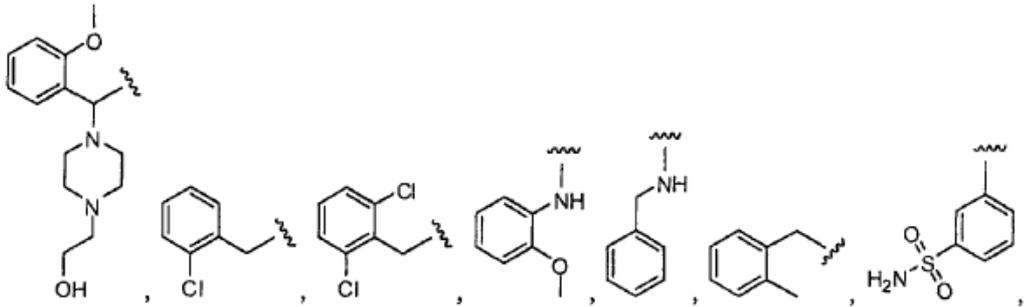
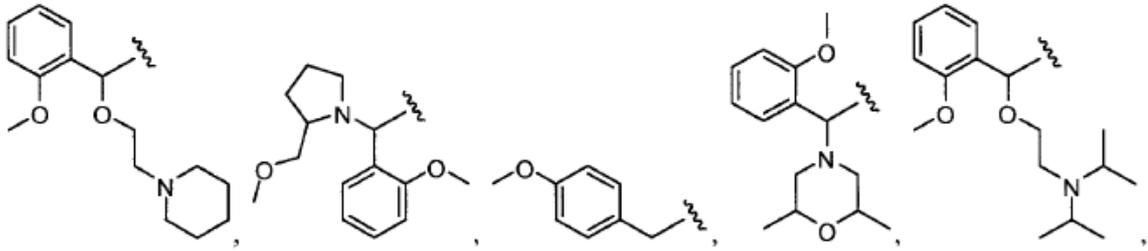
Otro compuesto ilustrativo de fórmula I se refiere a un compuesto de fórmula I y las definiciones que conlleva, en el que n es 1. En un compuesto ilustrativo adicional de fórmula I, n es 2.

30 En otra realización, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula I y las definiciones que conlleva, en el que W es un enlace. En una realización adicional, W es una cadena alquilideno (C_1 - C_6) opcionalmente sustituida. En una realización adicional, W es $-CH_2-$. En una realización adicional, W es $-NH-$. En una realización adicional, W es $-O-$. En una realización adicional, W es $-CO-$. En una realización adicional, W es $-OCH_2-$.

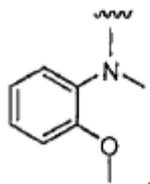
35 Otro compuesto ilustrativo de fórmula I se refiere a un compuesto de fórmula I y las definiciones que conlleva, en el que R^w es H. En una realización adicional, R^w es OH. En una realización adicional, R^w es heterocíclico. En una realización adicional, R^w es arilo. En una realización adicional, R^w es fenilo. En una realización adicional, R^w es heteroarilo. En una realización adicional, R^w es piridilo. En una realización adicional, R^w es alcoxi. En una realización adicional, R^w es cicloalquilo. En una realización adicional, R^w es ciclohexilo.

Otro compuesto ilustrativo de fórmula I se refiere a un compuesto de fórmula I y las definiciones que conlleva, en el que $-W-R^w$ es acíclico. En otra realización, $-W-R^w$ es un anillo arilo, heteroarilo, cicloalifático o heterocicloalifático. En una realización adicional, $-W(R^w)_n$ se selecciona entre los siguientes:

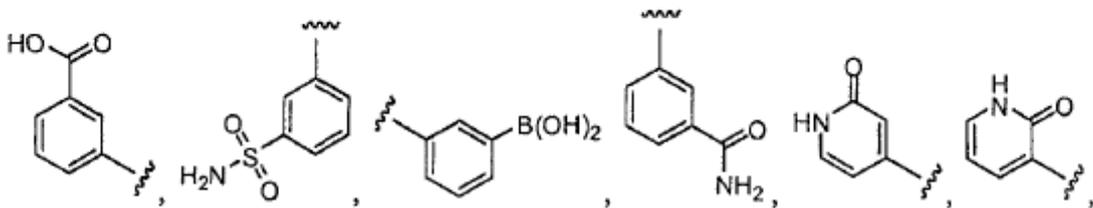
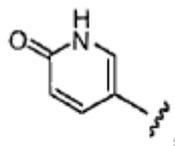
45 $-F$, $-CH_3$, $-CH_2CH_3$, $-CN$, $-CF_3$, $-CONH_2$, $-CH_2CH(CH_3)_2$,



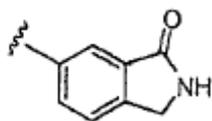
o



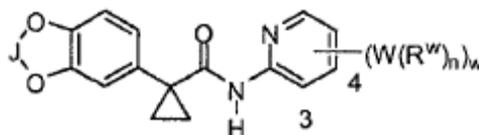
5 En una realización adicional, $-W(R^n)_n$ se selecciona de entre los siguientes:



o



Otro compuesto ilustrativo de fórmula I se refiere a un compuesto que tiene la fórmula Ia:



Ia

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

5

J es CH₂ o CF₂;

W es, de manera independiente, un enlace o una cadena alquilideno (C₁-C₆) en el que hasta dos unidades de metileno de W están, de manera independiente, reemplazadas por -CO-, -O- o -NR'-;

10

R' es, de manera independiente, H o alquilo;

R^w es, de manera independiente, H, halo, CN, N(R)₂, CF₃, OH, CO₂R, C(O)N(R)₂, -O-alquilideno (C₁-C₆)-OR, O-alquilideno (C₁-C₆)N(R)₂, -O-alquilideno (C₁-C₆) heterocíclico, o un alifático, cicloalifático, arilo, ariloxi, heterocíclico o heteroarilo opcionalmente sustituido, en el que, cuando está sustituido, R^w está sustituido con hasta dos R²;

15

R² es halo, OR, CO₂R, C(O)N(R)₂, SO₂N(R)₂, B(OR)₂ o N(R)₂;

R es, de manera independiente, H, alquilo, cicloalquilo, heterocíclico, arilo o heteroarilo;

20

n es 1 o 2; y

w es un número entero de 0 a 4, ambos inclusive;

25

siempre que, cuando W es un enlace y R^w es cicloalifático, heterocicloalifático, arilo o heteroarilo, -WR^w está unido a la posición 3 o 4 del anillo piridilo.

Otro compuesto ilustrativo de fórmula I se refiere a un compuesto que tiene la fórmula Ia y las definiciones que conlleva, en el que J es CH₂. En una realización adicional, J es CF₂.

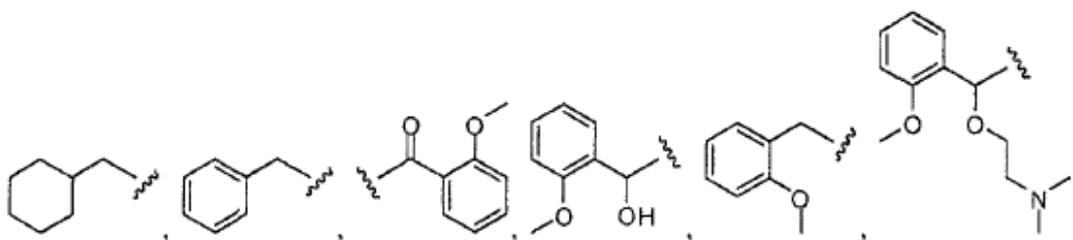
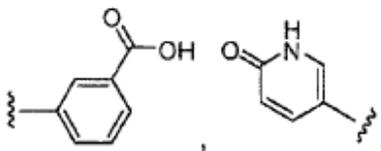
30

Otro compuesto ilustrativo de fórmula I se refiere a un compuesto que tiene la fórmula Ia y las definiciones que conlleva, en el que -WR^w es acíclico. En otra realización, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula Ia y las definiciones que conlleva, en el que -WR^w es un anillo arilo, heteroarilo, cicloalifático o heterocicloalifático.

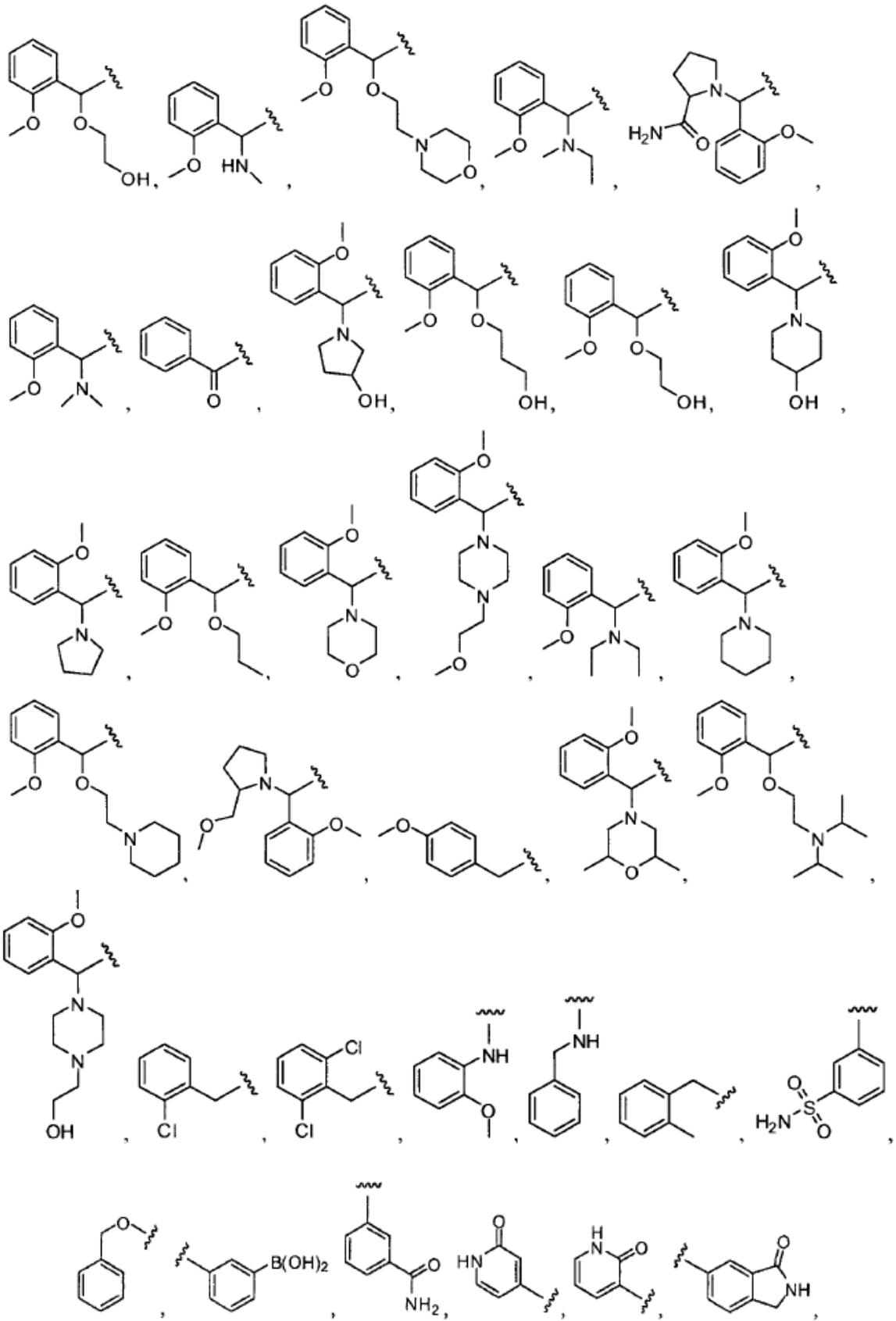
35

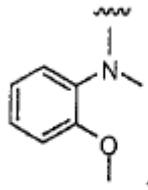
Otro compuesto ilustrativo de fórmula I se refiere a un compuesto que tiene la fórmula Ia y las definiciones que conlleva, en el que -W(R^w)_n se selecciona de entre los siguientes:

-F, -CH₃, -CH₂CH₃, -CN, -CF₃, -CONH₂, -CH₂CH(CH₃)₂,

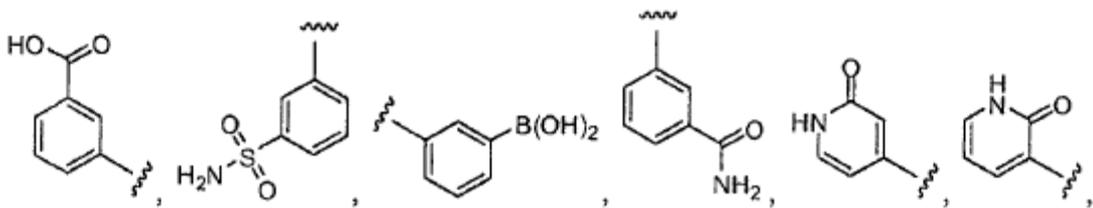
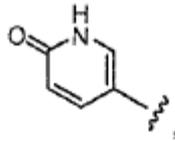


40

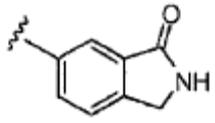




En una realización adicional, $-W(R^w)_n$ se selecciona de entre los siguientes:

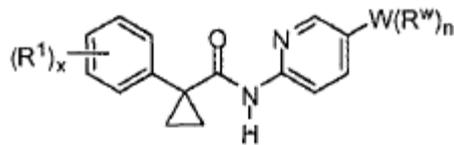


5
o



Otro ejemplo se refiere a un compuesto que tiene la fórmula **Ib**:

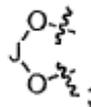
10



Ib

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que

15 R^1 es halo, alquilo, OH, alcoxi, tioalquilo, trifluorometoxi; o
dos R^1 en átomos adyacentes, tomados conjuntamente, forman



20 en el que J se selecciona del grupo que consiste en CH_2 , CF_2 o $C(CH_3)_2$;

W es $-NR'$, $-CO-$ o $-CH_2-$;

25 R' es, de manera independiente, H o alquilo;

R^w es, de manera independiente, H, halo, CN, $N(R)_2$, CF_3 , OH, CO_2R , $C(O)N(R)_2$, -O-alkiliden (C_1-C_6)-OR, -O-alkiliden (C_1-C_6)- $N(R)_2$, -O-alkiliden (C_1-C_6)-heterocíclico, o un alifático, cicloalifático, arilo, ariloxi, heterocíclico o heteroarilo opcionalmente sustituido, en el que, cuando está sustituido, R^w está sustituido con hasta dos R^2 ;

5 R^2 es halo, OR, CO_2R , $C(O)N(R)_2$, $SO_2N(R)_2$, $B(OR)_2$ o $N(R)_2$;

R es, de manera independiente, H, alquilo, cicloalquilo, heterocíclico, arilo o heteroarilo;

n es 1 o 2; y

10

x es un número entero de 0 a 5, ambos inclusive.

Otro compuesto ilustrativo de fórmula I se refiere a un compuesto que tiene la fórmula Ib y las definiciones que conlleva, en el que dos R^1 de átomos adyacentes, tomados conjuntamente, forman:

15

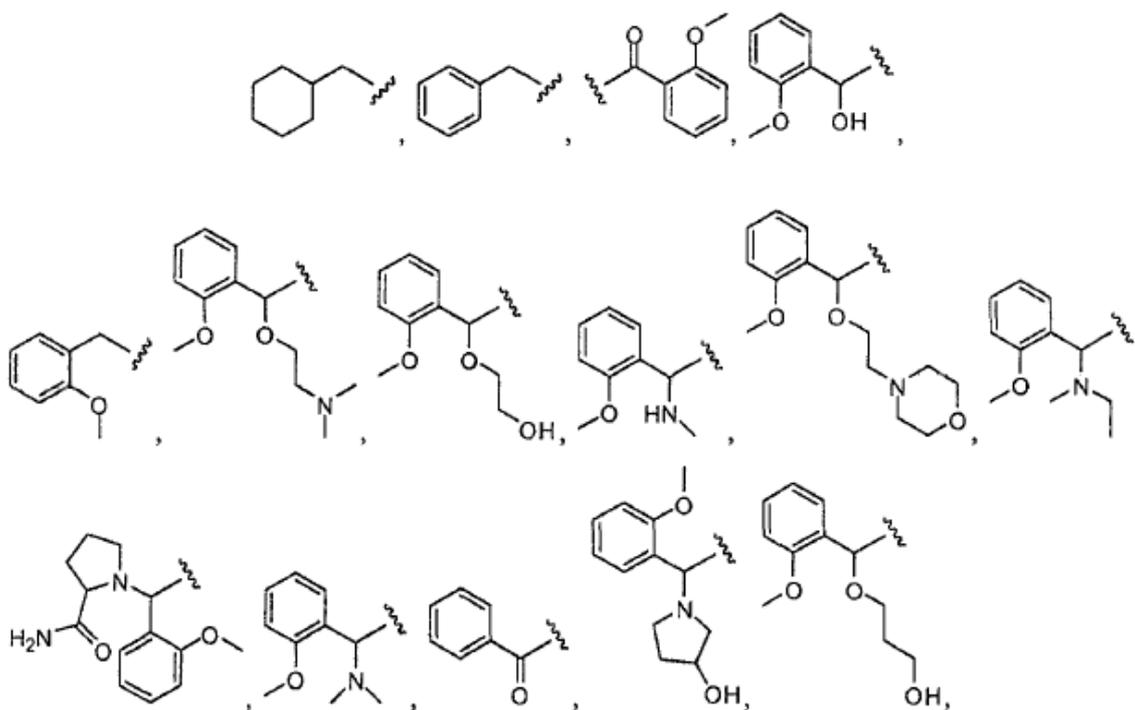


y J es CH_2 . En otra realización, J es CF_2 .

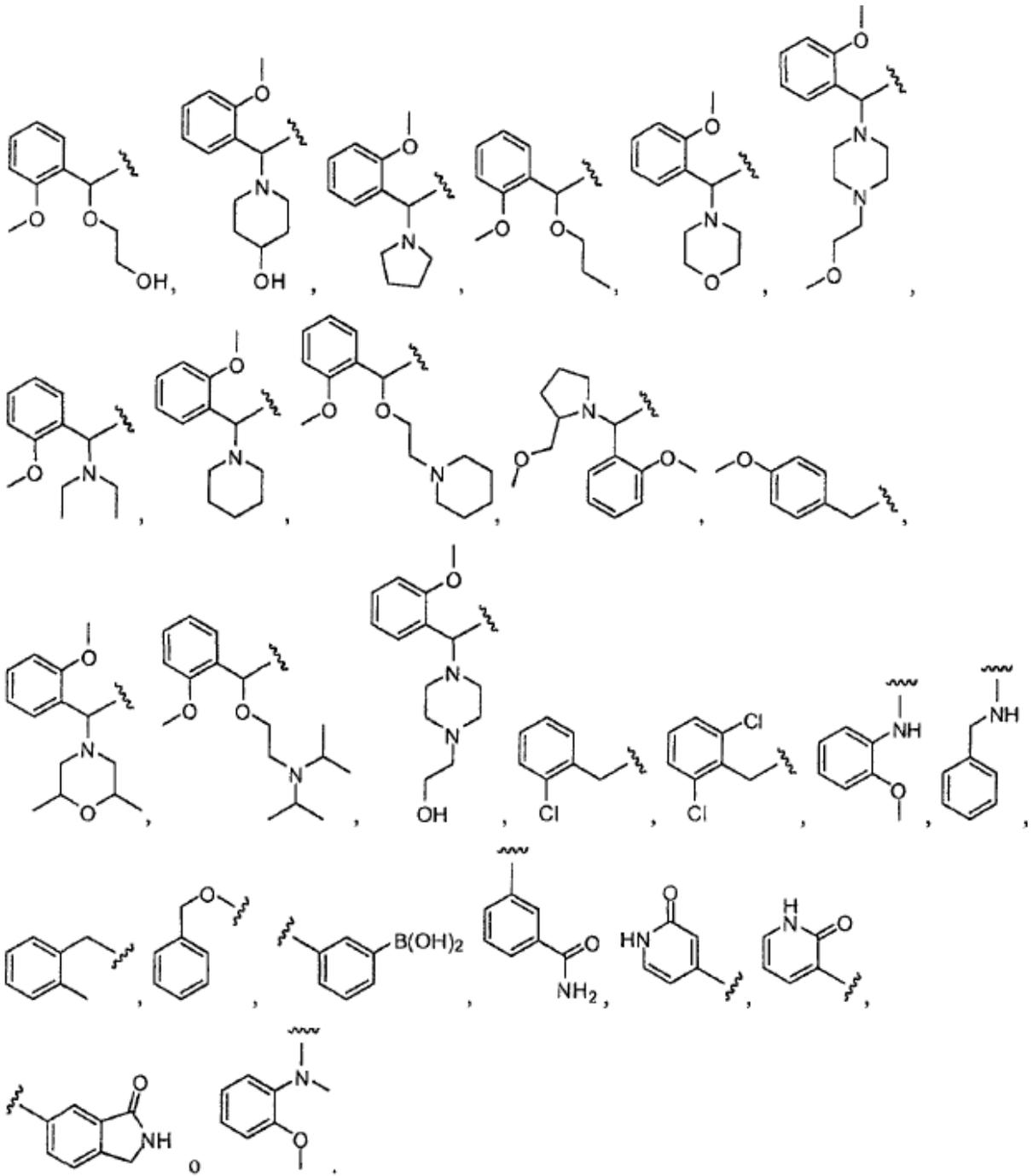
Otro compuesto ilustrativo de fórmula I se refiere a un compuesto que tiene la fórmula Ib y las definiciones que conlleva, en el que $-W(R^w)_n$ se selecciona de entre los siguientes:

20

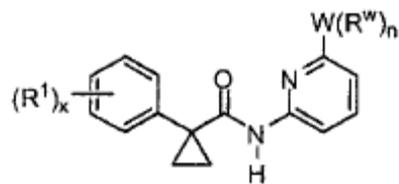
$-CH_3$, $-CH_2CH_3$, $-CH_2CH(CH_3)_2$,



25



Otro compuesto ilustrativo de fórmula I se refiere a un compuesto que tiene la fórmula Ic:



Ic

5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que:

R¹ es halo, alquilo, OH, alcoxi, tioalquilo, trifluorometoxi; o

dos R¹ de átomos adyacentes, tomados conjuntamente, forman



5 en el que J se selecciona del grupo que consiste en CH₂, CF₂ o C(CH₃)₂;

W es -NR', -CO- o -CH₂-

;

R' es, de manera independiente, H o alquilo;

10 R^w es, de manera independiente, H, halo, CN, N(R)₂, CF₃, OH, CO₂R, C(O)N(R)₂, -O-alquiliden (C₁-C₆)-OR, -O-alquiliden (C₁-C₆)-N(R)₂, -O-alquiliden (C₁-C₆)-heterocíclico, o un alifático, cicloalifático, arilo, ariloxi, heterocíclico o heteroarilo opcionalmente sustituido, en el que, cuando está sustituido, R^w está sustituido con hasta dos R²;

15 R² es halo, OR, CO₂R, C(O)N(R)₂, SO₂N(R)₂, B(OR)₂ o N(R)₂;

R es, de manera independiente, H, alquilo, cicloalquilo, heterocíclico, arilo o heteroarilo;

n es 1 o 2; y

20

x es un número entero de 0 a 5, ambos inclusive.

Otro compuesto ilustrativo de fórmula I se refiere a un compuesto que tiene la fórmula Ic y las definiciones que conlleva, en el que dos R¹ de átomos adyacentes, tomados conjuntamente, forman:

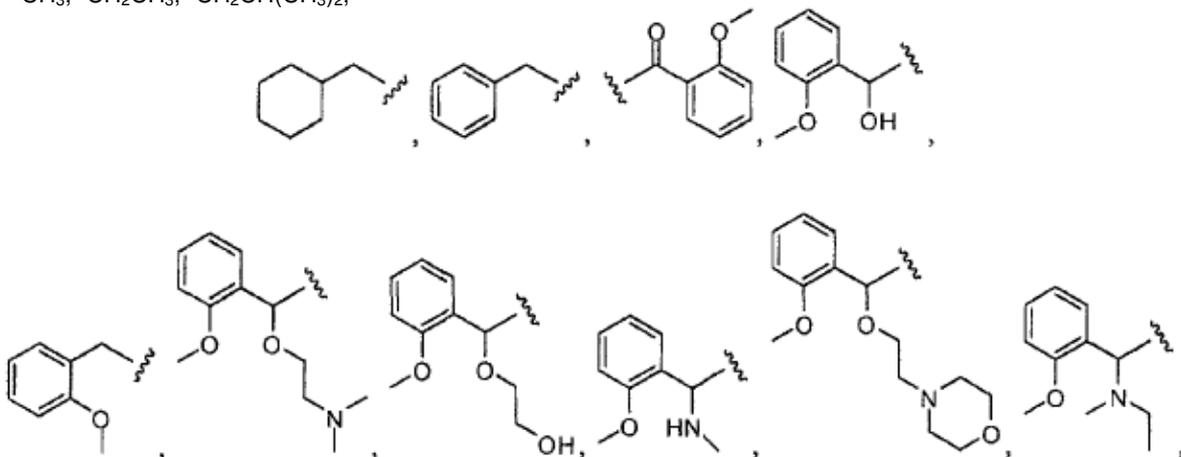
25



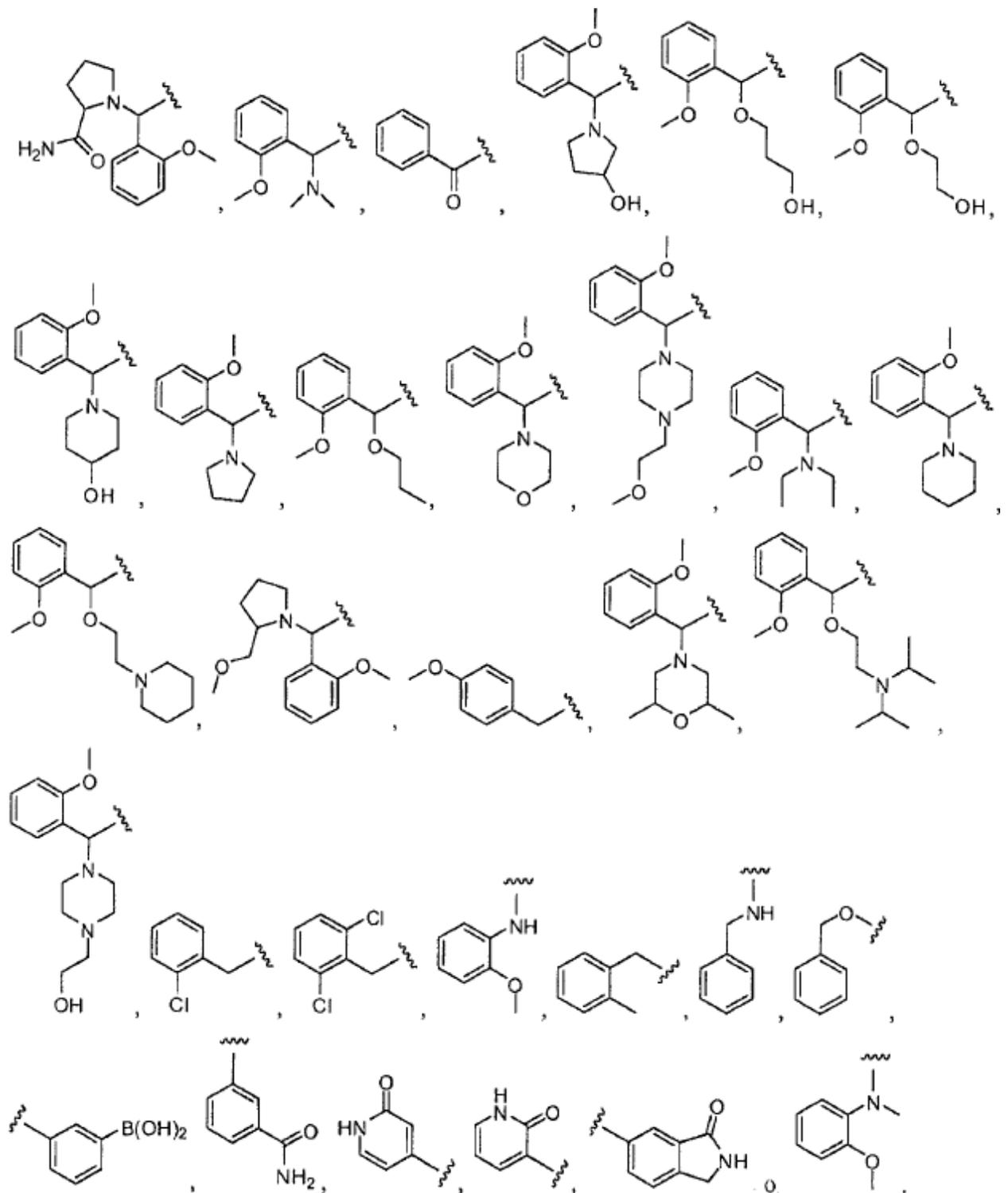
y J es -CH₂-. En otra realización, J es CF₂.

30 Otro compuesto ilustrativo de fórmula I se refiere a un compuesto que tiene la fórmula Ic y las definiciones que conlleva, en el que -W(R^w)_n se selecciona de entre los siguientes

-CH₃, -CH₂CH₃, -CH₂CH(CH₃)₂,

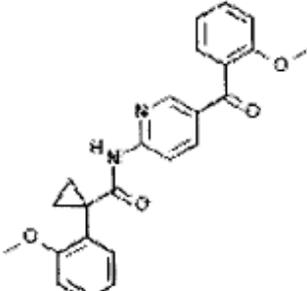
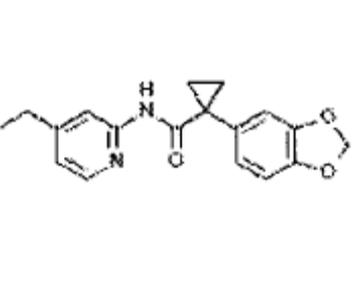
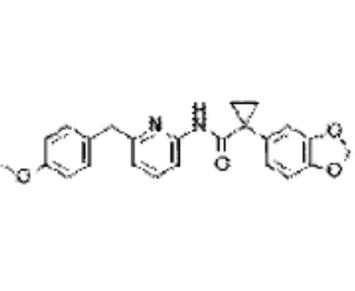
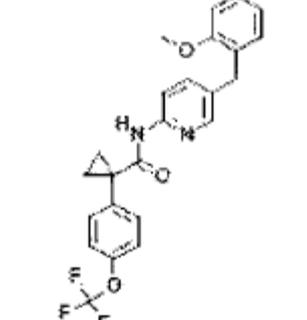
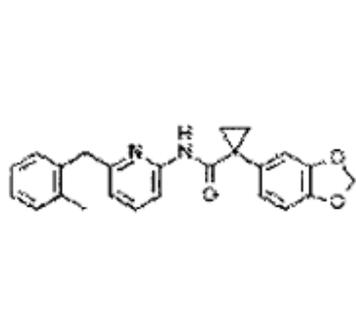
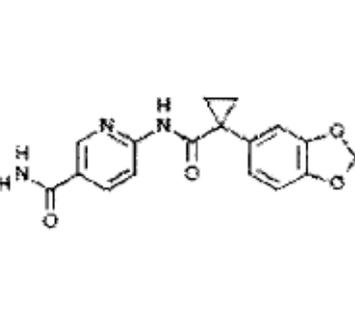
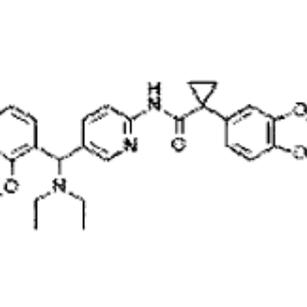
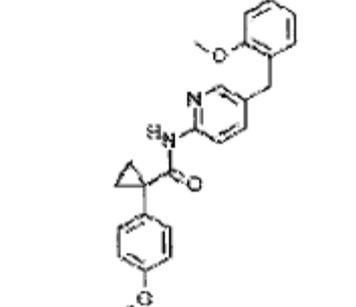
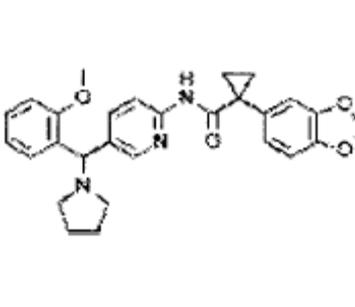
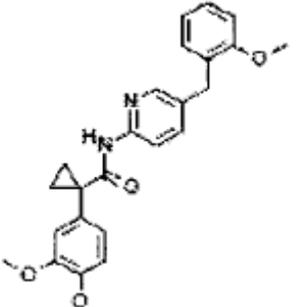
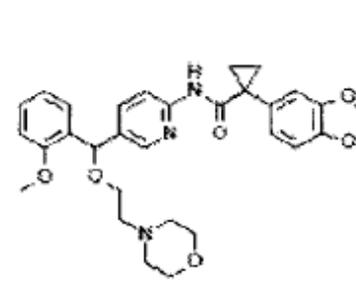
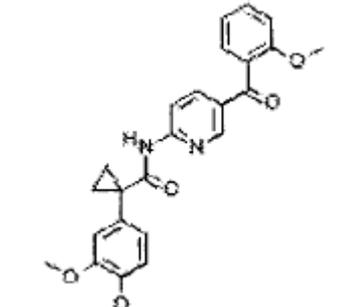


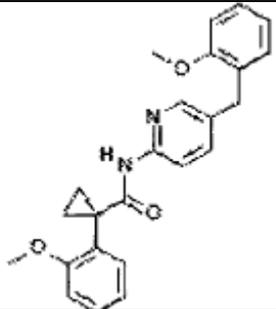
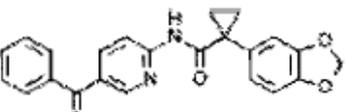
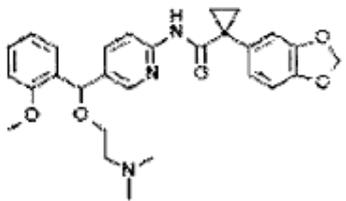
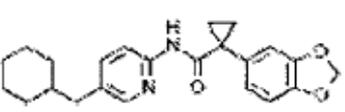
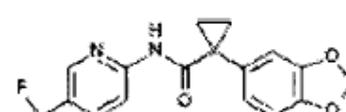
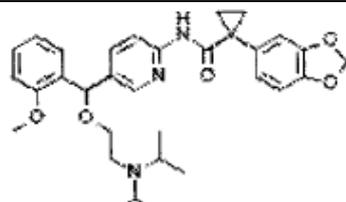
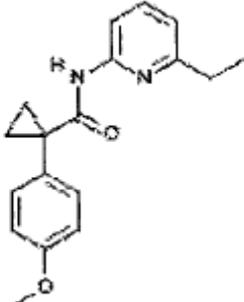
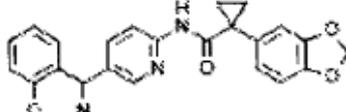
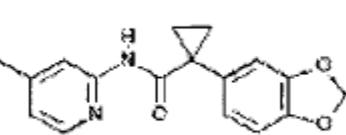
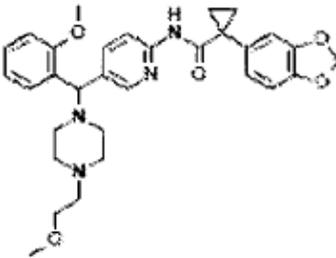
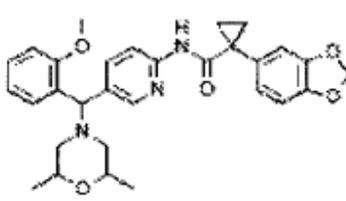
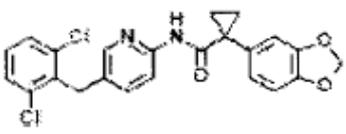
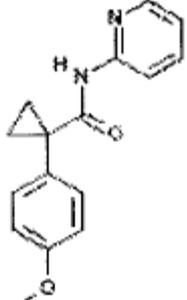
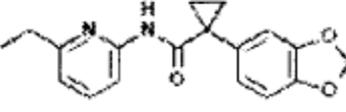
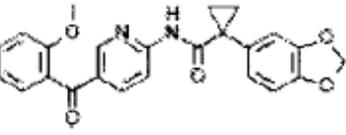
35

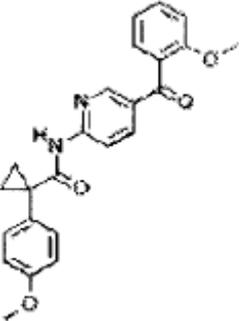
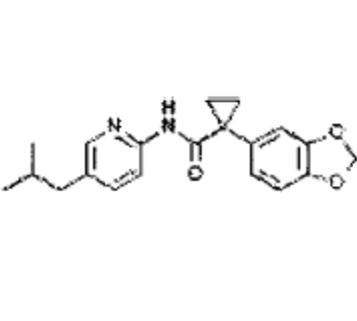
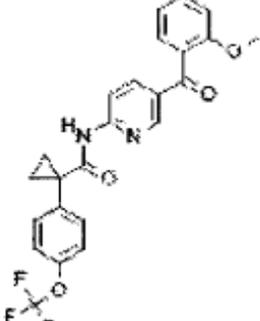
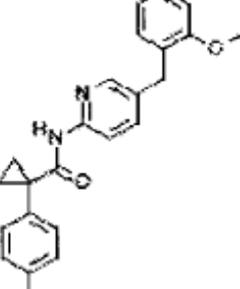
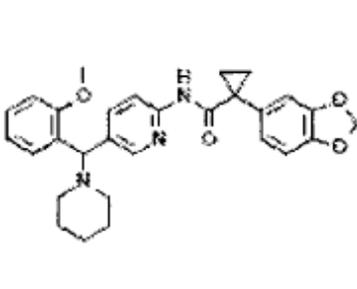
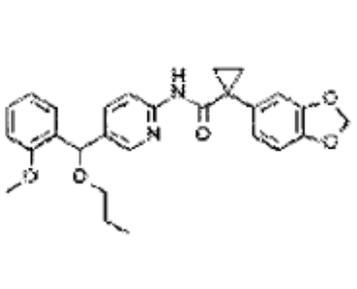
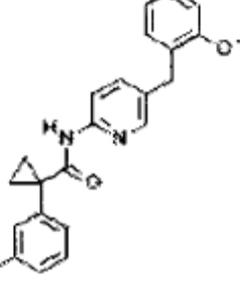
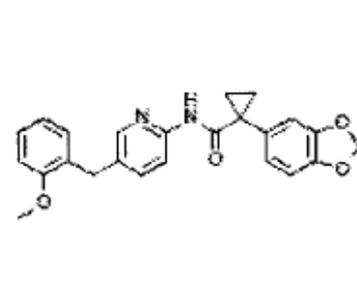
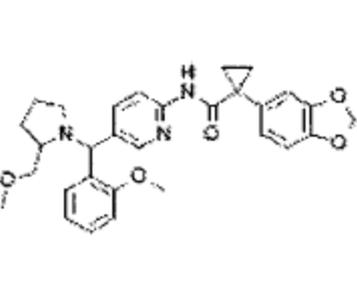
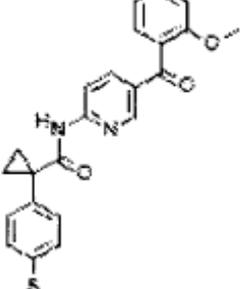
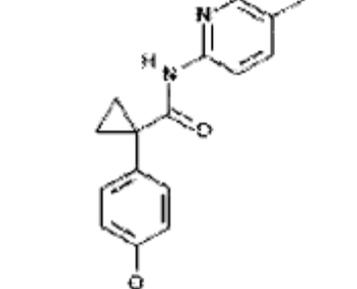
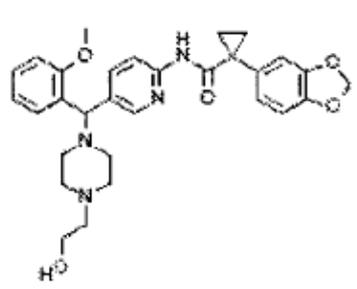
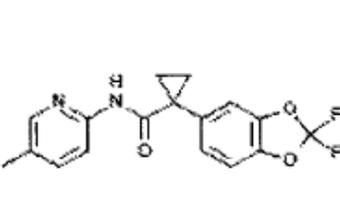
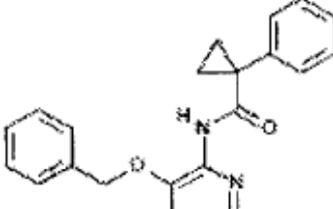
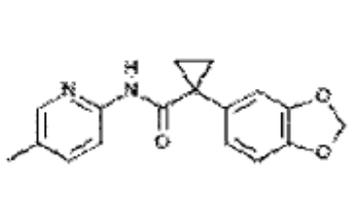


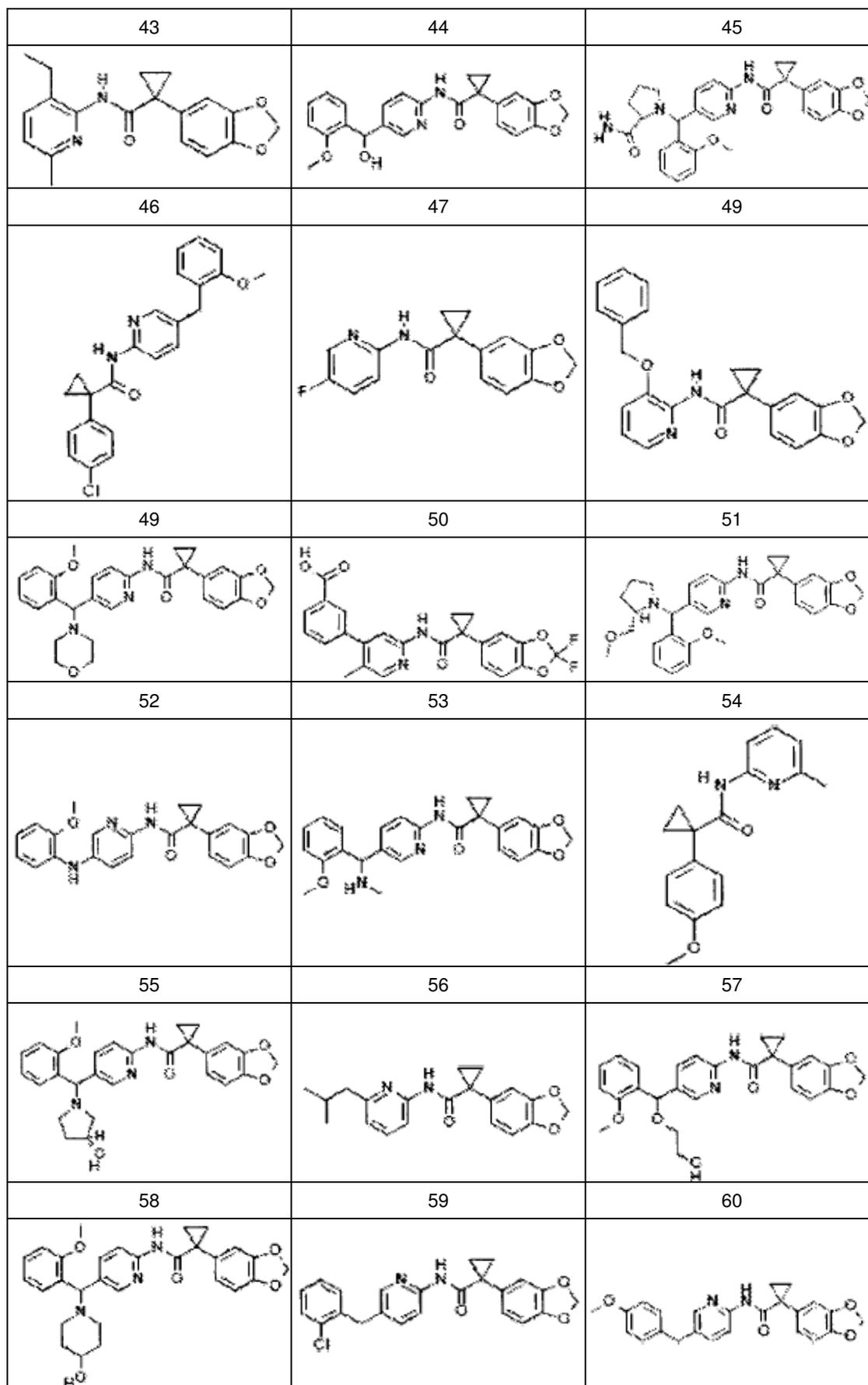
Otro compuesto ilustrativo de fórmula I se refiere a un compuesto de la Tabla 1.

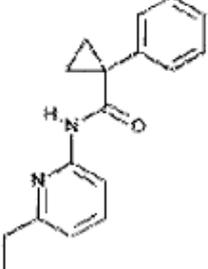
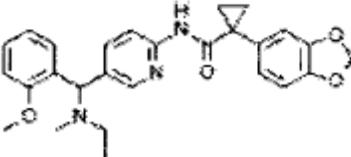
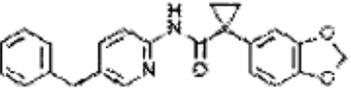
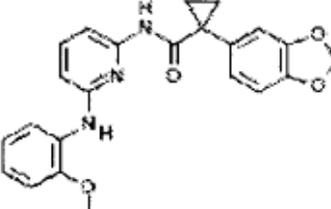
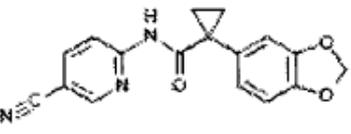
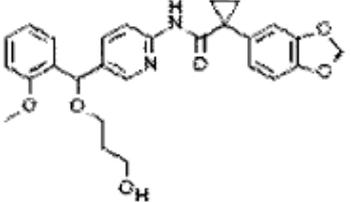
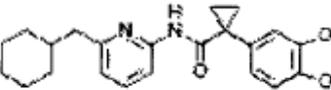
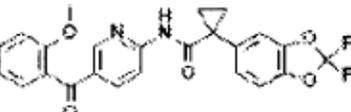
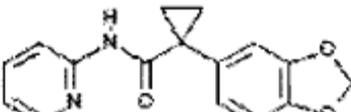
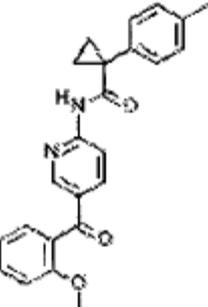
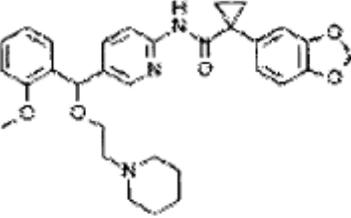
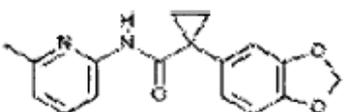
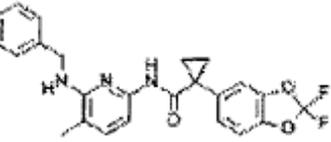
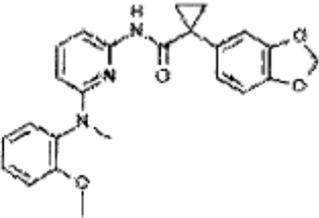
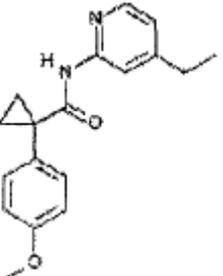
Tabla 1

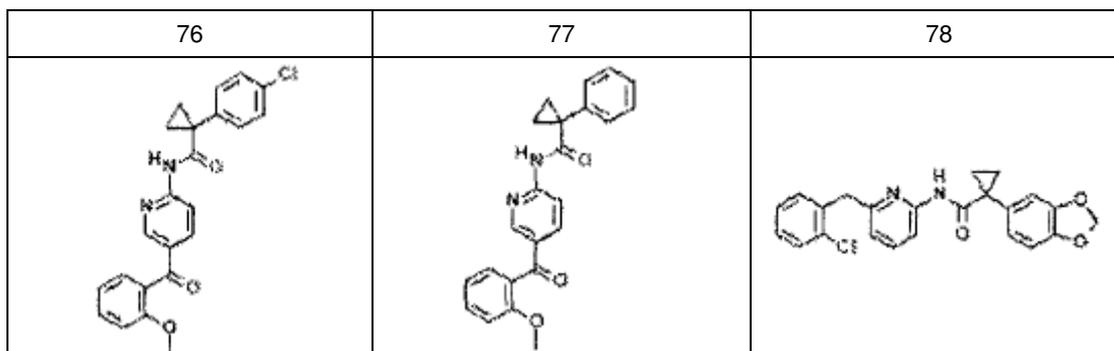
| 1 | 2 | 3 |
|---|---|---|
|  |  |  |
| 4 | 5 | b |
|  |  |  |
| 7 | 8 | 9 |
|  |  |  |
| 10 | 11 | 12 |
|  |  |  |

| | | |
|---|---|---|
| <p>13</p>  | <p>14</p>  | <p>15</p>  |
| <p>16</p>  | <p>17</p>  | <p>18</p>  |
| <p>19</p>  | <p>20</p>  | <p>21</p>  |
| <p>22</p>  | <p>23</p>  | <p>24</p>  |
| <p>25</p>  | <p>26</p>  | <p>27</p>  |

| | | |
|---|---|---|
| 28 | 29 | 30 |
|  |  |  |
| 31 | 32 | 33 |
|  |  |  |
| 34 | 35 | 36 |
|  |  |  |
| 37 | 38 | 39 |
|  |  |  |
| 40 | 41 | 42 |
|  |  |  |



| | | |
|---|---|---|
| 61 | 62 | 63 |
|  |  |  |
| 64 | 65 | 66 |
|  |  |  |
| 67 | 68 | 69 |
|  |  |  |
| 70 | 71 | 72 |
|  |  |  |
| 73 | 74 | 75 |
|  |  |  |



La presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende (i) un compuesto de la presente invención; y (ii) un vehículo farmacéuticamente aceptable. En otra realización, la composición farmacéutica comprende además un agente adicional seleccionado del grupo que consiste en un agente mucolítico, broncodilatador, un antibiótico, un agente antiinfectivo, un agente antiinflamatorio, corrector del CFTR y un agente nutricional.

En otra realización, la presente invención se refiere a un método de modulación de los transportadores ABC en una membrana de una célula, que comprende la etapa de poner en contacto dicha célula con un compuesto de la presente invención. En otra realización, el transportador ABC es CFTR.

En otra realización, la presente invención se refiere a un compuesto o una composición farmacéutica para su uso en un método de tratamiento de una afección, enfermedad o trastorno en un paciente afectado por la actividad del transportador ABC, que comprende la etapa de administrar a dicho paciente un compuesto de la presente invención. En otra realización, el transportador ABC es el CFTR. Dicha afección, enfermedad o trastorno se selecciona de entre fibrosis quística, enfisema hereditario, hemocromatosis hereditaria, deficiencias de la coagulación-fibrinólisis tales como la deficiencia de proteína C, angioedema hereditario de tipo 1, deficiencias en el procesamiento de lípidos tales como hipercolesterolemia familiar, quilomicronemia de tipo 1, abetalipoproteinemia, enfermedades del almacenamiento lisosomal tales como la enfermedad de la célula I/pseudo-polidistofia de Hurler, mucopolisacaridosis, Sandhof/Tay-Sachs, Crigler-Najjar de tipo II, poliendocrinopatía/hiperinsulinemia, diabetes mellitus, enanismo de Laron, deficiencia de mieloperoxidasa, hipoparatiroidismo primario, melanoma, glucanosis CDG de tipo 1, enfisema hereditario, hipertiroidismo congénito, osteogénesis imperfecta, hipofibrinogenemia hereditaria, deficiencia de ACT, diabetes insípida (DI), DI neurofiseal, DI nefrogénica, síndrome de Charcot-Marie Tooth, enfermedad de Pelizaeus-Merzbacher, enfermedades neurodegenerativas tales como la enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica, parálisis supranuclear progresiva, enfermedad de Pick, varios trastornos neurológicos de la poliglutamina tales como Huntington, ataxia espinocerebelosa de tipo I, atrofia muscular espinal y bulbar, atrofia dentatorrubro pálido-luisiana y distrofia miotónica, así como encefalopatías espongiformes tales como la enfermedad hereditaria de Creutzfeldt-Jakob, enfermedad de Fabry, síndrome de Geustmann-Straussler-Scheinker, EPOC, enfermedad de sequedad ocular y síndrome de Sjögren.

En otra realización, la presente invención se refiere a un kit para su uso en la medición de la actividad de un transportador ABC o un fragmento del mismo en una muestra biológica *in vitro* o *in vivo*, que comprende: (i) una primera composición que comprende un compuesto de la presente invención; y (ii) instrucciones para: a) poner en contacto la composición con la muestra biológica; y b) medir la actividad de dicho transportador ABC o un fragmento del mismo.

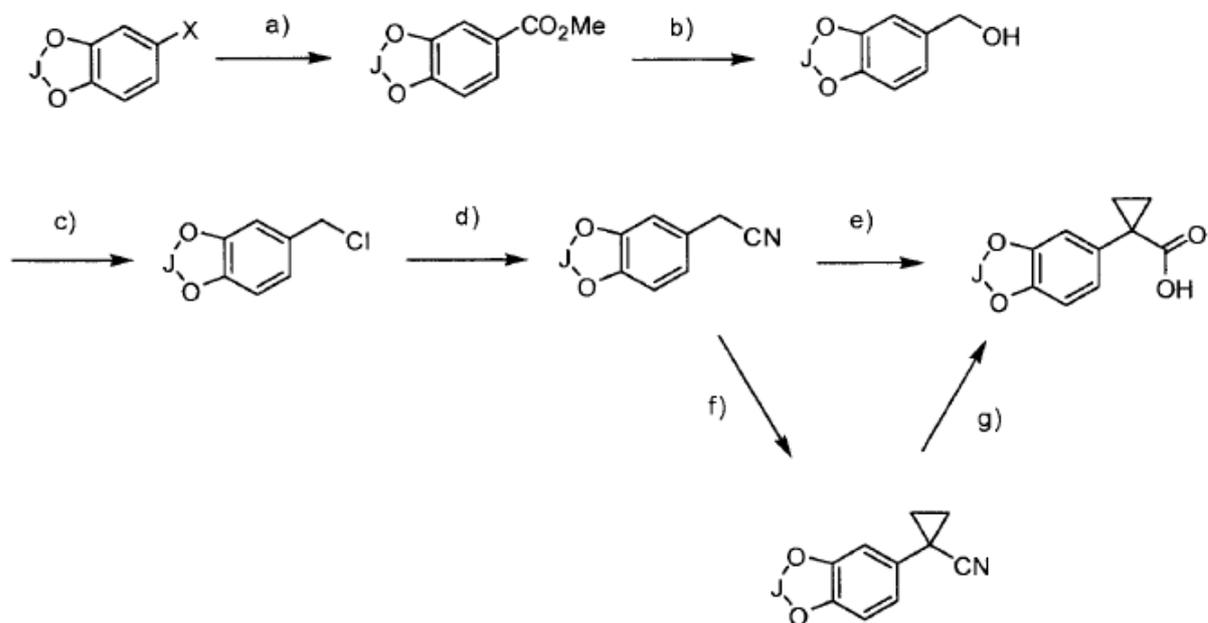
Esquemas de síntesis generales

Los compuestos de fórmula I se pueden preparar mediante métodos bien conocidos en la técnica. A continuación, se ilustran ejemplos de métodos para la preparación de compuestos de fórmula I. El siguiente esquema I ilustra un método de síntesis a modo de ejemplo para los compuestos de fórmula I.

ESQUEMAS DE SÍNTESIS

En los Esquemas I-IV, se ilustran vías de síntesis a modo de ejemplo para los compuestos de los ejemplos y las reivindicaciones.

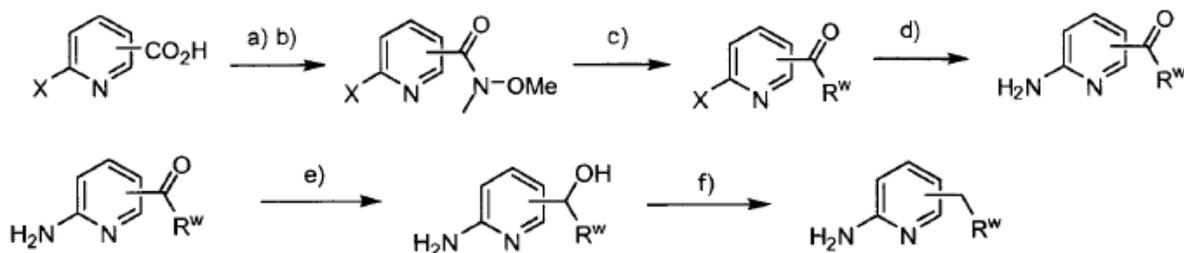
Esquema I. Preparación de ácidos ciclopropílicos



X = Br o I;

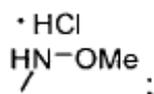
- 5 a) Pd(PPh₃)₄, CO, MeOH; b) LiAlH₄; c) SOCl₂; d) NaCN; e) ClCH₂CH₂Br, NaOH, ΔT; f) ClCH₂CH₂Br, NaOH; g) NaOH, ΔT.

Esquema II. Preparación de componentes básicos de aminopiridilo



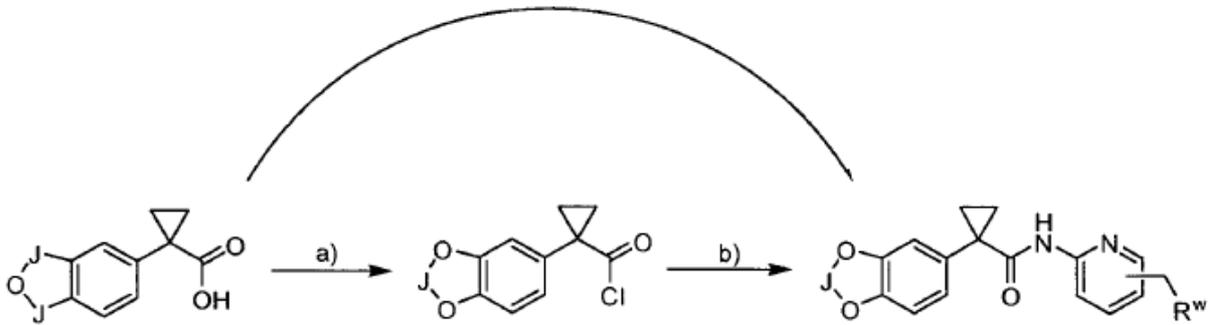
X = Cl, Br o I;

- 10 a) ClCO₂/tBu, Et₃N; b)

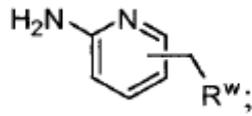


- c) R^wM (M = Li, MgBr); d) NH₃, EtOH; e) NaBH₄, MeOH; f) Et₃SiH, TFA.

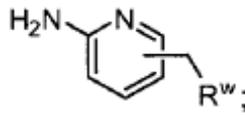
Esquema III. Acoplamiento de amidas
c)



a) SOCl_2 , DMF; b) Piridina,



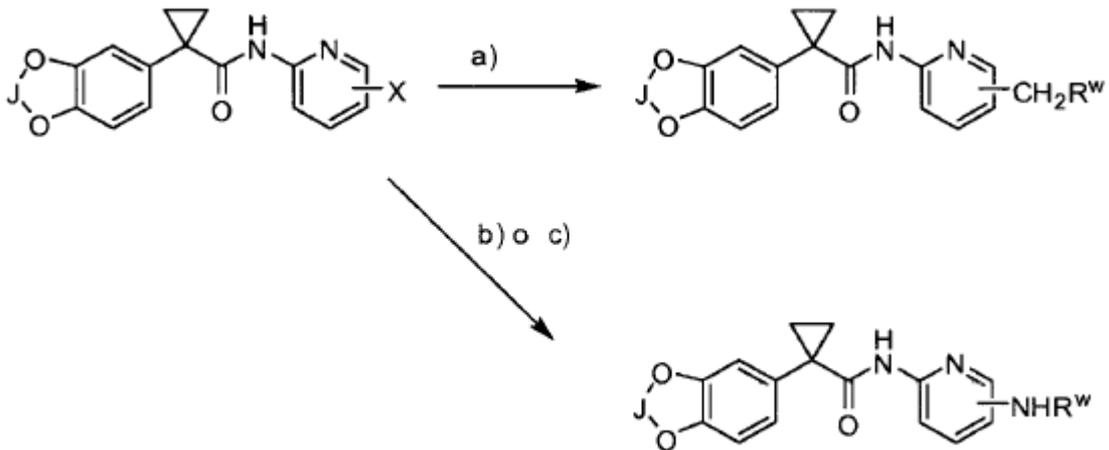
5 c) HATU, Et_3N , DMF,



o como alternativa:

10 **Esquema IV. Derivatización de amidas**

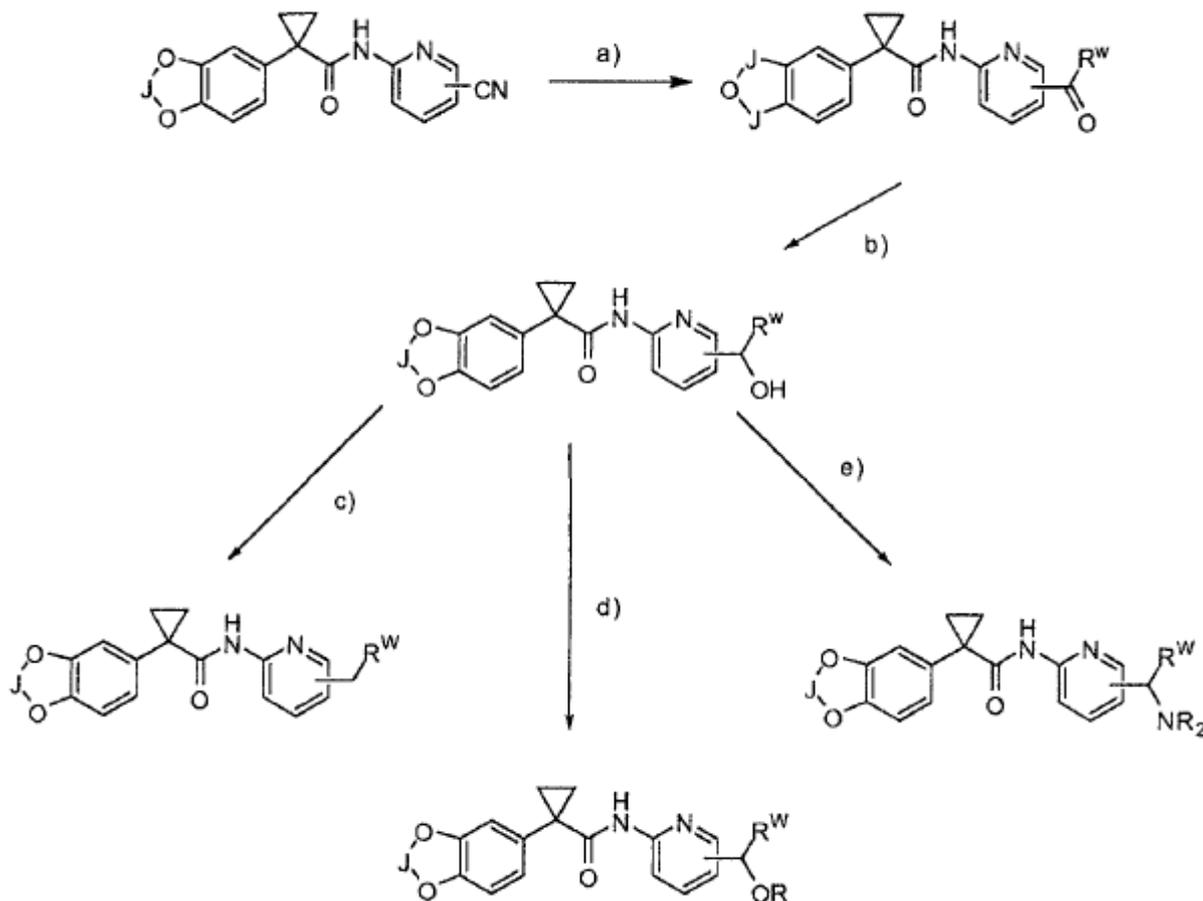
Esquema IVa



15 X = Cl, Br o I;

a) $\text{R}^w\text{CH}_2\text{ZnY}_n$, $(\text{dppf})_2\text{PdCl}_2$, THF (Y = Cl, n = 2; Y = Br, n = 1); b) R^wNH_2 , $(\text{dppf})_2\text{PdCl}_2$, Xantphos, $\text{K}^+\text{O}^-\text{Bu}$, dioxano, Et_3N ; c) R^wNH_2 .

20

Esquema IVb

a) R^W MgBr; b) NaBH_4 , MeOH; c) Et_3SiH , TFA; d) ROH, *p*-TsOH, tolueno; e) 1) MsCl, DIEA; 2) R_2NH , DIEA.

5

Cualquier experto en la materia apreciará fácilmente que las vías de síntesis adecuadas para los diversos sustituyentes de la presente invención son las de las condiciones y las etapas de reacción.

Usos, formulación y administración

10

Composiciones farmacéuticamente aceptables

Como se ha analizado anteriormente, la presente invención proporciona compuestos que son útiles como moduladores de los transportadores ABC y, por tanto, son útiles en el tratamiento de enfermedades, trastornos o afecciones tales como fibrosis quística, enfisema hereditario, hemocromatosis hereditaria, deficiencias de la coagulación-fibrinólisis tales como la deficiencia de proteína C, angioedema hereditario de tipo 1, deficiencias en el procesamiento de lípidos tales como hipercolesterolemia familiar, quilomicronemia de tipo 1, abetalipoproteinemia, enfermedades del almacenamiento lisosomal tales como la enfermedad de la célula l/pseudo-polidistofia de Hurler, mucopolisacaridosis, Sandhof/Tay-Sachs, Crigler-Najjar de tipo II, poliendocrinopatía/hiperinsulinemia, diabetes mellitus, enanismo de Laron, deficiencia de mieloperoxidasa, hipoparatiroidismo primario, melanoma, glucanosis CDG de tipo 1, enfisema hereditario, hipertiroidismo congénito, osteogénesis imperfecta, hipofibrinogenemia hereditaria, deficiencia de ACT, diabetes insípida (DI), DI neurofiseal, DI nefrogénica, síndrome de Charcot-Marie Tooth, enfermedad de Pelizaeus-Merzbacher, enfermedades neurodegenerativas tales como la enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica, parálisis supranuclear progresiva, enfermedad de Pick, varios trastornos neurológicos de la poliglutamina tales como Huntington, ataxia espinocerebelosa de tipo I, atrofia muscular espinal y bulbar, atrofia dentatorrubro pálido-louisiana y distrofia miotónica, así como encefalopatías espongiiformes tales como la enfermedad hereditaria de Creutzfeldt-Jakob, enfermedad de Fabry, síndrome de Geustmann-Straussler-Scheinker, EPOC, enfermedad de sequedad ocular y síndrome de Sjögren.

30

Por consiguiente, en otro aspecto de la presente invención, se proporcionan las composiciones farmacéuticamente aceptables, en las que estas composiciones comprenden cualquiera de los compuestos descritos en el presente documento, y comprenden opcionalmente un vehículo o un adyuvante farmacéuticamente aceptable. En determinadas realizaciones, estas composiciones comprenden además opcionalmente uno o más agentes

terapéuticos adicionales.

También se apreciará que determinados de los compuestos de la presente invención pueden existir en su forma libre para el tratamiento, o cuando sea apropiado, en forma de un derivado farmacéuticamente aceptable del mismo. De acuerdo con la presente invención, un derivado farmacéuticamente aceptable incluye, pero sin limitación, sales, ésteres, sales de tales ésteres, o cualquier otro aducto o derivado farmacéuticamente aceptable que, tras la administración a un paciente en necesidad del mismo, es capaz de proporcionar, directa o indirectamente, un compuesto como se ha descrito de otro modo en el presente documento, o un metabolito o resto del mismo.

Como se usa en el presente documento, la expresión "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a aquellas sales que son, dentro del alcance del criterio médico bien fundado, adecuadas para su uso en contacto con los tejidos de seres humanos y de animales inferiores sin provocar excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica y similares, y son proporcionales a una relación beneficio/riesgo razonable. Una "sal farmacéuticamente aceptable" significa cualquier sal no tóxica de un compuesto de la presente invención que, tras la administración a un receptor, es capaz de proporcionar, directa o indirectamente, un compuesto de la presente invención, o un metabolito o resto del mismo inhibidoramente activo.

Las sales farmacéuticamente aceptables son muy conocidas en la técnica. Por ejemplo, S. M. Berge, *et al.* describen las sales farmacéuticamente aceptables detalladamente en *J. Pharmaceutical Sciences*, 1977, 66, 1-19. Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de la presente invención incluyen las obtenidas a partir de ácidos y de bases inorgánicos y orgánicos adecuados. Los ejemplos de sales de adición de ácido no tóxicas farmacéuticamente aceptables son sales de un grupo amino formadas con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico y ácido perclórico, o con ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido oxálico, ácido maleico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido succínico o ácido malónico, o usando otros métodos usados en la técnica tales como el intercambio iónico. Otras sales farmacéuticamente aceptables incluyen adipato, alginato, ascorbato, aspartato, bencenosulfonato, benzoato, bisulfato, borato, butirato, alcanforato, alcanforsulfonato, citrato, propionato de ciclopentano, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, formiato, fumarato, glucoheptonato, glicerofosfato, gluconato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, yodhidrato, 2-hidroxi-etanosulfonato, lactobionato, lactato, laurato, laurilsulfato, malato, maleato, malonato, metanosulfonato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, nitrato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, fosfato, picrato, pivalato, propionato, estearato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato, *p*-toluenosulfonato, undecanoato, sales de valerato, y similares. Las sales derivadas de bases apropiadas incluyen sales de metal alcalino, metal alcalinotérreo, amonio y $N^+(alquilo C_{1-4})_4$. La presente invención también concibe la cuaternización de cualquier grupo básico que contenga nitrógeno de los compuestos divulgados en el presente documento. Los productos solubles o dispersables en agua o en aceite se pueden obtener mediante tal cuaternización. Las sales representativas de metal alcalino o alcalinotérreo incluyen sodio, litio, potasio, calcio, magnesio, y similares. Otras sales adicionales farmacéuticamente aceptables incluyen, cuando sea apropiado, los cationes no tóxicos de amonio, amonio cuaternario y amina formados usando contraiones tales como haluro, hidróxido, carboxilato, sulfato, fosfato, nitrato, sulfonato de alquilo inferior y sulfonato de arilo.

Como se ha descrito anteriormente, las composiciones farmacéuticamente aceptables de la presente invención comprenden además un vehículo o adyuvante farmacéuticamente aceptable que, como se usa en el presente documento, incluye todos y cada uno de entre disolventes, diluyentes u otros vehículos líquidos, adyuvantes de dispersión o de suspensión, agentes tensioactivos, agentes isotónicos, agentes espesantes o emulsionantes, conservantes, aglutinantes sólidos, lubricantes y similares, ya que se adaptan a la forma de dosificación particular deseada. "Remington's Pharmaceutical Sciences", XVI Edición, E. W. Martin (Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1980) divulga diversos vehículos usados en la formulación de composiciones farmacéuticamente aceptables y en las técnicas conocidas para la preparación de las mismas. A excepción de que cualquier vehículo convencional sea incompatible con los compuestos de la presente invención, tal como mediante la producción de cualquier efecto biológico no deseado o que interactúe de forma perjudicial con cualquier otro componente o componentes de la composición farmacéuticamente aceptable, su uso se contempla dentro del alcance de la presente invención. Algunos ejemplos de materiales que pueden servir como vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen, pero sin limitación, intercambiadores iónicos, alúmina, estearato de aluminio, lecitina, proteínas séricas tales como albúmina de suero humano, sustancias tampón tales como fosfatos, glicina, ácido sórbico o sorbato potásico, mezclas parciales de glicéridos de ácidos grasos vegetales saturados, agua, sales o electrolitos tales como sulfato de protamina, hidrógeno-fosfato disódico, hidrógeno-fosfato potásico, cloruro sódico, sales de cinc, sílice coloidal, trisilicato de magnesio, polivinilpirrolidona, poliácrilatos, ceras, polímeros en bloque de polietileno-polioxipropileno, lanolina, azúcares tales como lactosa, glucosa y sacarosa; almidones tales como almidón de maíz y almidón de patata; celulosa y sus derivados tales como carboximetilcelulosa sódica, etilcelulosa y acetato de celulosa; tragacanto en polvo; malta; gelatina; talco; excipientes tales como manteca de cacao y ceras para supositorios; aceites tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón; aceite de cártamo; aceite de sésamo; aceite de oliva; aceite de maíz y aceite de soja; glicoles; tales como propilenglicol o polietilenglicol; ésteres tales como oleato de etilo y laurato de etilo; agar; agentes de tamponamiento tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; ácido alginico; agua no pirogénica; suero salino isotónico; solución de Ringer; alcohol etílico, y soluciones de tampón fosfato, así como otros lubricantes compatibles no tóxicos tales como laurilsulfato sódico y estearato de magnesio, así como agentes colorantes, agentes de liberación, agentes de recubrimiento, edulcorantes,

aromatizantes y agentes perfumantes, conservantes y antioxidantes también pueden estar presentes en la composición, de acuerdo con el juicio del formulador.

Usos de compuestos y de composiciones farmacéuticamente aceptables

5 En otro aspecto más, la presente invención proporciona un compuesto para su uso en un método de tratamiento de una afección, enfermedad o trastorno afectados por la actividad del transportador ABC. En determinadas realizaciones, la presente invención divulga un método para el tratamiento de una afección, enfermedad o trastorno
10 afectados por una deficiencia de la actividad del transportador ABC, método que comprende administrar una composición que comprende un compuesto de fórmula (I) a un sujeto, preferentemente, a un mamífero, en necesidad del mismo.

En determinadas realizaciones preferidas, la presente invención divulga un método para el tratamiento de la fibrosis
15 quística, el enfisema hereditario (debido a la α 1-antitripsina; variantes no Piz), la hemocromatosis hereditaria, deficiencias de coagulación-fibrinólisis tales como la deficiencia de proteína C, el angioedema hereditario de tipo 1, deficiencias de procesamiento de lípidos tales como hipercolesterolemia familiar, quilomicronemia de tipo 1, abetalipoproteinemia, enfermedades de almacenamiento lisosomal tales como la enfermedad de la célula I/pseudo-
20 polidistofia de Hurler, mucopolisacaridosis (debida a enzimas de procesamiento lisosomal), Sandhof/Tay-Sachs (debido a β -hexosaminidasa), Crigler-Najjar de tipo II (debida a la UDP-glucuronil-siálico-transferasa), poliendocrinopatía/hiperinsulemia, diabetes mellitus (debida al receptor de insulina), enanismo de Laron (debido al receptor de la hormona de crecimiento), deficiencia de mieloperoxidasa, hipoparatiroidismo primario (debido a la hormona preproparatiroidea), melanoma (debido a la tirosinasa). Las enfermedades asociadas con la última clase de mal funcionamiento del RE son la glucanosis CDG de tipo 1, el enfisema hereditario (debido a la α 1-antitripsina
25 (variante PiZ), hipertiroidismo congénito, osteogénesis imperfecta (debida al procolágeno de tipo I, II, IV), hipofibrinogenemia hereditaria (debida al fibrinógeno), deficiencia de ACT (debida a la α 1-antiquimotripsina), diabetes insípida (DI), DI neurofiseal (debido a la hormona vasopresina/receptor de V2), DI nefrogénica (debida a la acuaporina II), síndrome de Charcot-Marie Tooth (debido la proteína de mielina periférica 22), enfermedad de Pelizaeus-Merzbacher, enfermedades neurodegenerativas tales como la enfermedad de Alzheimer (debida a la β APP y a las presenilinas), enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica, parálisis supranuclear
30 progresiva, enfermedad de Pick, diversos trastornos neurológicos de la poliglutamina tales como Huntington, ataxia espinocerebelosa de tipo I, atrofia muscular espinal y bulbar, atrofia dentatorrubro pálido-louisiana y distrofia miotónica, así como encefalopatías espongiiformes tales como la enfermedad hereditaria de Creutzfeldt-Jakob (debida a un defecto en el procesamiento de la proteína priónica), la enfermedad de Fabry (debida a la α -
35 galactosidasa A lisosomal), el Síndrome de Straussler-Scheinker, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), enfermedad de sequedad ocular y síndrome de Sjögren, que comprende la etapa de administrar a dicho mamífero una cantidad eficaz de una composición que comprende un compuesto de fórmula (I), o una realización preferente del mismo como se ha expuesto anteriormente.

De acuerdo con una realización alternativa preferida, la presente invención divulga un método para el tratamiento de
40 la fibrosis quística que comprende la etapa de administrar a dicho mamífero una cantidad eficaz de una composición que comprende un compuesto de fórmula (I), o una realización preferida del mismo como se ha expuesto anteriormente.

De acuerdo con la presente invención una "cantidad eficaz" del compuesto o de la composición farmacéuticamente
45 aceptable es aquella cantidad eficaz para el tratamiento o la disminución de la gravedad de uno o más de entre fibrosis quística, enfisema hereditario (debido a la α 1-antitripsina; variantes no Piz), hemocromatosis hereditaria, deficiencias de coagulación-fibrinólisis tales como la deficiencia de proteína C, angioedema hereditario de tipo 1, deficiencias de procesamiento de lípidos tales como hipercolesterolemia familiar, quilomicronemia de tipo 1, abetalipoproteinemia, enfermedades de almacenamiento lisosomal tales como la enfermedad de la célula I/pseudo-
50 polidistofia de Hurler, mucopolisacaridosis (debida a enzimas de procesamiento lisosomal), Sandhof/Tay-Sachs (debido a β -hexosaminidasa), Crigler-Najjar de tipo II (debida a la UDP-glucuronil-siálico-transferasa), poliendocrinopatía/hiperinsulemia, diabetes mellitus (debida al receptor de insulina), enanismo de Laron (debido al receptor de la hormona de crecimiento), deficiencia de mieloperoxidasa, hipoparatiroidismo primario (debido a la hormona preproparatiroidea), melanoma (debido a la tirosinasa). Las enfermedades asociadas con la última clase de mal funcionamiento del RE son la glucanosis CDG de tipo 1, el enfisema hereditario (debido a la α 1-antitripsina
55 (variante PiZ), hipertiroidismo congénito, osteogénesis imperfecta (debida al procolágeno de tipo I, II, IV), hipofibrinogenemia hereditaria (debida al fibrinógeno), deficiencia de ACT (debida a la α 1-antiquimotripsina), diabetes insípida (DI), DI neurofiseal (debido a la hormona vasopresina/receptor de V2), DI nefrogénica (debida a la acuaporina II), síndrome de Charcot-Marie Tooth (debido la proteína de mielina periférica 22), enfermedad de Pelizaeus-Merzbacher, enfermedades neurodegenerativas tales como la enfermedad de Alzheimer (debida a la β APP y a las presenilinas), enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica, parálisis supranuclear
60 progresiva, enfermedad de Pick, diversos trastornos neurológicos de la poliglutamina tales como Huntington, ataxia espinocerebelosa de tipo I, atrofia muscular espinal y bulbar, atrofia dentatorrubro pálido-louisiana y distrofia miotónica, así como encefalopatías espongiiformes tales como la enfermedad hereditaria de Creutzfeldt-Jakob
65 (debida a un defecto en el procesamiento de la proteína priónica), la enfermedad de Fabry (debida a la α -

galactosidasa A lisosomal), el Síndrome de Straussler-Scheinker, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), enfermedad de sequedad ocular y síndrome de Sjögren.

5 Los compuestos y las composiciones se pueden administrar usando cualquier cantidad y cualquier vía de administración eficaz para el tratamiento o la disminución de la gravedad de uno o más de entre fibrosis quística, enfisema hereditario (debido a la $\alpha 1$ -antitripsina; variantes no Piz), hemocromatosis hereditaria, deficiencias de coagulación-fibrinólisis tales como la deficiencia de proteína C, angioedema hereditario de tipo 1, deficiencias de procesamiento de lípidos tales como hipercolesterolemia familiar, quilomicronemia de tipo 1, abetalipoproteinemia, enfermedades de almacenamiento lisosomal tales como la enfermedad de la célula I/pseudo-polidistofia de Hurler, 10 mucopolisacaridosis (debida a enzimas de procesamiento lisosomal), Sandhof/Tay-Sachs (debido a β -hexosaminidasa), Crigler-Najjar de tipo II (debida a la UDP-glucuronil-sialico-transferasa), poliendocrinopatía/hiperinsulemia, diabetes mellitus (debida al receptor de insulina), enanismo de Laron (debido al receptor de la hormona de crecimiento), deficiencia de mieloperoxidasa, hipoparatiroidismo primario (debido a la hormona preproparatiroidea), melanoma (debido a la tirosinasa). Las enfermedades asociadas con la última clase de mal funcionamiento del RE son la glucanosis CDG de tipo 1, el enfisema hereditario (debido a la $\alpha 1$ -antitripsina (variante PIZ), hipertiroidismo congénito, osteogénesis imperfecta (debida al procolágeno de tipo I, II, IV), hipofibrinogenemia hereditaria (debida al fibrinógeno), deficiencia de ACT (debida a la $\alpha 1$ -antiquimotripsina), diabetes insípida (DI), DI neurofiseal (debido a la hormona vasopresina/receptor de V2), DI nefrogénica (debida a la acuaporina II), síndrome de Charcot-Marie Tooth (debido la proteína de mielina periférica 22), enfermedad de Pelizaeus-Merzbacher, enfermedades neurodegenerativas tales como la enfermedad de Alzheimer (debida a la β APP y a las presenilinas), enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica, parálisis supranuclear progresiva, enfermedad de Pick, diversos trastornos neurológicos de la poliglutamina tales como Huntington, ataxia espinocerebelosa de tipo I, atrofia muscular espinal y bulbar, atrofia dentatorrubro pálido-louisiana y distrofia miotónica, así como encefalopatías espongiiformes tales como la enfermedad hereditaria de Creutzfeldt-Jakob 25 (debida a un defecto en el procesamiento de la proteína priónica), la enfermedad de Fabry (debida a la α -galactosidasa A lisosomal), el Síndrome de Straussler-Scheinker, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), enfermedad de sequedad ocular y síndrome de Sjögren.

30 La cantidad exacta necesaria variará de un sujeto a otro, dependiendo de la especie, la edad, y el estado general del sujeto, la gravedad de la infección, el agente en particular, su modo de administración, y similares. Los compuestos de la presente invención se formulan preferentemente en forma de dosificación unitaria para facilitar la administración y la uniformidad de la dosificación. La expresión "forma de dosificación unitaria", como se usa en el presente documento, se refiere a una unidad físicamente diferenciada de agente apropiado para el paciente que se va a tratar. No obstante, se entenderá que el uso diario total de los compuestos y de las composiciones de la 35 presente invención será decidido por el médico asistente dentro del alcance del criterio médico bien fundado. El nivel de dosis eficaz específico para cualquier paciente u organismo en particular dependerá de diversos factores que incluyen el trastorno que se está tratando y la gravedad del trastorno; la actividad del compuesto específico empleado; la composición específica empleada; la edad, el peso corporal, el estado de salud general, el sexo y la dieta del paciente; el momento de la administración, la vía de administración y la tasa de excreción del compuesto 40 específico empleado; la duración del tratamiento; los fármacos usados en combinación o coincidentes con el compuesto específico empleado, y factores similares bien conocidos en las técnicas médicas. El término "paciente", como se usa en el presente documento, significa un animal, preferentemente un mamífero, y lo más preferentemente un ser humano.

45 Las composiciones farmacéuticamente aceptables de la presente invención se pueden administrar a seres humanos y a otros animales por vía oral, rectal, parenteral, intracisternal, intravaginal, intraperitoneal, tópica (en forma de polvos, pomadas o gotas), bucal, en forma de un pulverizado oral o nasal, o similares, dependiendo de la gravedad de la infección que se esté tratando. En determinadas realizaciones, los compuestos de la presente invención se pueden administrar por vía oral o por vía parenteral a niveles de dosis de aproximadamente 0,01 mg/kg a 50 aproximadamente 50 mg/kg, y preferentemente de aproximadamente 1 mg/kg a aproximadamente 25 mg/kg, de peso corporal del sujeto al día, una o más veces al día, para obtenerse el efecto terapéutico deseado.

55 Las formas de dosificación líquidas para la administración oral incluyen, pero sin limitación, emulsiones, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Además de los compuestos activos, las formas de dosificación líquidas pueden contener diluyentes inertes usados comúnmente en la técnica tales como, por ejemplo, agua u otros disolventes, agentes de solubilización y emulsionantes tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, dimetilformamida, aceites (en particular, aceites de semilla de algodón, de cacahuete, de maíz, de germen, de oliva, de ricino y de sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofurfurílico, polietilenglicoles y ésteres 60 de ácidos grasos de sorbitán, y las mezclas de los mismos. Además de diluyentes inertes, las composiciones orales también pueden incluir adyuvantes tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y agentes de suspensión, edulcorantes, aromatizantes y agentes perfumantes.

65 Las preparaciones inyectables, por ejemplo, suspensiones acuosas u oleaginosas inyectables estériles se pueden formular de acuerdo con la técnica conocida usando agentes de dispersión o humectantes y agentes de suspensión

adecuados. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución, suspensión o emulsión inyectable estéril en un diluyente o disolvente no tóxico parenteralmente aceptable, por ejemplo, en forma de una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y los disolventes aceptables que se pueden emplear, está el agua, la solución de Ringer, U.S.P. y la solución de cloruro sódico isotónico. Además, los aceites no volátiles estériles se emplean de forma convencional como disolvente o medio de suspensión. Para este fin, se puede emplear cualquier aceite no volátil blando que incluya mono- o diglicéridos sintéticos. Además, en la preparación de inyectables, se usan ácidos grasos tales como ácido oléico.

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

Para prolongar el efecto de un compuesto de la presente invención, a menudo se desea ralentizar la absorción del compuesto a partir de la inyección subcutánea o intramuscular. Esto se puede conseguir mediante el uso de una suspensión líquida de material cristalino o amorfo con baja solubilidad en agua. Entonces, la tasa de absorción del compuesto depende de su tasa de disolución que, a su vez, puede depender del tamaño del cristal y de la forma cristalina. Como alternativa, la absorción retardada de una forma de un compuesto administrado por vía parenteral se consigue por disolución o suspensión del compuesto en un vehículo oleoso. Las formas de depósito inyectables se elaboran formando matrices microencapsuladas del compuesto en polímeros biodegradables tales como polilactida-poliglicólido. Dependiendo de la proporción del compuesto con respecto al polímero y de la naturaleza del polímero empleado en particular, se puede controlar la tasa de liberación del compuesto. Los ejemplos de otros polímeros biodegradables incluyen poli(ortoésteres) y poli(anhídridos). Las formulaciones inyectables de depósito también se preparan atrapando el compuesto en liposomas o microemulsiones que son compatibles con los tejidos corporales.

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

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

Las composiciones sólidas de un tipo similar también se pueden emplear como cargas en cápsulas de gelatina rellenas blandas y duras usando excipientes tales como lactosa o azúcar de la leche, así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares. Las formas de dosificación sólida de comprimidos, grageas, cápsulas, píldoras y gránulos se pueden preparar con recubrimientos y cubiertas tales como recubrimientos entéricos y otros recubrimientos bien conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica. Pueden contener opcionalmente agentes de opacidad y también pueden ser de una composición que libere solamente el principio o los principios activos, o preferentemente, en una determinada parte del tracto intestinal, opcionalmente, de una forma retardada. Los ejemplos de composiciones de inclusión que se pueden usar incluyen sustancias poliméricas y ceras. Las composiciones sólidas de un tipo similar también se pueden emplear como cargas en cápsulas de gelatina rellenas blandas y duras usando excipientes tales como lactosa o azúcar de la leche, así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares.

Los compuestos activos también pueden estar en forma microencapsulada con uno o más excipientes como se ha indicado anteriormente. Las formas de dosificación sólida de comprimidos, grageas, cápsulas, píldoras y gránulos se pueden preparar con recubrimientos y cubiertas tales como recubrimientos entéricos, recubrimientos de liberación controlada y otros recubrimientos bien conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica. En tales formas de dosificación sólida, el compuesto activo se puede mezclar con al menos un diluyente inerte tal como sacarosa, lactosa o almidón. Tales formas de dosificación también pueden comprender, como es la práctica habitual, sustancias adicionales distintas de los diluyentes inertes, por ejemplo, lubricantes para comprimidos y otros adyuvantes de compresión tales como un estearato de magnesio y celulosa microcristalina. En el caso de las cápsulas, los comprimidos y las píldoras, las formas de dosificación también pueden comprender agentes de tamponamiento. Pueden contener opcionalmente agentes de opacidad y también pueden ser de una composición

que libere solamente el principio o los principios activos, o preferentemente, en una determinada parte del tracto intestinal, opcionalmente, de una forma retardada. Los ejemplos de composiciones de inclusión que se pueden usar incluyen sustancias poliméricas y ceras.

5 Las formas de dosificación para la administración tópica o transdérmica de un compuesto de la presente invención incluyen pomadas, pastas, cremas, lociones, geles, polvos, soluciones, pulverizados, inhalantes o parches. El componente activo se mezcla en condiciones estériles con un vehículo farmacéuticamente aceptable y con cualquier conservante o tampón necesario si fuera necesario. La formulación oftálmica, gotas para los oídos y gotas oculares también se contemplan dentro del alcance de la presente invención. Además, la presente invención contempla el uso de parches transdérmicos, que tienen la ventaja añadida de proporcionar una administración controlada de un compuesto en el organismo. Dichas formas de dosificación se preparan disolviendo o suministrando el compuesto en el medio adecuado. También se pueden usar potenciadores de la absorción para aumentar el flujo del compuesto a través de la piel. La tasa se puede controlar proporcionando una membrana para el control de la tasa o mediante la dispersión del compuesto en una matriz polimérica o en un gel.

15 Como se ha descrito anteriormente en general, los compuestos de la presente invención son útiles como moduladores de los transportadores ABC. Así pues, sin desear quedar vinculados a ninguna teoría en particular, los compuestos y las composiciones son particularmente útiles para el tratamiento o la disminución de la gravedad de una enfermedad, afección o trastorno cuando la hiperactividad o la inactividad de los transportadores ABC están implicadas en la enfermedad, afección o trastorno. Cuando la hiperactividad o la inactividad de los transportadores ABC están implicadas en una enfermedad, afección o trastorno en particular, la enfermedad, afección o trastorno también se puede denominar "enfermedad, afección o trastorno mediado por el transportador ABC". Por consiguiente, en otro aspecto, la presente invención divulga un método para el tratamiento o la disminución de la gravedad de una enfermedad, afección o trastorno en el que la hiperactividad o la inactividad de un transportador ABC están implicadas en el estado patológico.

La actividad de un compuesto utilizado en la presente invención como un modulador de un transportador ABC se puede analizar de acuerdo con métodos descritos en general en la técnica y los ejemplos del presente documento.

30 También se apreciará que los compuestos y las composiciones farmacéuticamente aceptables de la presente invención se pueden emplear en terapias de combinación, es decir, los compuestos y las composiciones farmacéuticamente aceptables se pueden administrar simultáneamente con, antes de o posteriormente a uno o más de otros procedimientos terapéuticos o médicos deseados. La combinación particular de terapias (agentes terapéuticos o procedimientos) para emplear en un régimen de combinación tendrá en cuenta la compatibilidad de los agentes terapéuticos y/o los procedimientos deseados y el efecto terapéutico que se desee conseguir. También se apreciará que las terapias empleadas puedan conseguir un efecto deseado para el mismo trastorno (por ejemplo, el compuesto de la invención se puede administrar simultáneamente con otro agente usado para tratar el mismo trastorno) o puedan conseguir efectos diferentes (por ejemplo, el control de cualquier efecto adverso). Como se usa en el presente documento, los agentes terapéuticos adicionales que se administran normalmente para tratar o prevenir una enfermedad o afección en particular, se conocen como "adecuados para la enfermedad o afección que se está tratando".

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

50 En otra realización, el agente adicional es un compuesto seleccionado de entre gentamicina, curcumina, ciclofosfamida, 4-fenilbutirato, miglustato, felodipina, nimodipina, Filoxina B, geniesteína, apigenina, moduladores de cAMP/cGMP tales como rolipram, sildenafil, milrinona, tadalafil, amrinona, isoproterenol, albuterol y almeterol, desoxiespergualina, inhibidores de HSP 90, inhibidores de HSP 70, inhibidores de proteosoma tales como epoxomicina, lactacistina, etc.

55 En otra realización, el agente adicional es un compuesto divulgado en los documentos WO 2004028480, WO 2004110352, WO 2005094374, WO 2005120497 o WO 2006101740.

En otra realización, el agente adicional es un derivado de benzo(c)quinolizinio que presenta actividad de modulación de CFTR o un derivado de benzopirano que presenta actividad de modulación de CFTR.

60 En otra realización, el agente adicional es un compuesto divulgado en los documentos US7202262, US6992096, US20060148864, US20060148863, US20060035943, US20050164973, WO2006110483, WO2006044456, WO2006044682, WO2006044505, WO2006044503, WO2006044502 o WO2004091502.

65 En otra realización, el agente adicional es un compuesto divulgado en los documentos WO2004080972, WO2004111014, WO2005035514, WO2005049018, WO2006002421, WO2006099256, WO2006127588 o WO2007044560.

En otra realización, el agente adicional se selecciona de entre los compuestos divulgados en la solicitud de patente de EE.UU. con N° de serie 11/165.818, publicada como solicitud de patente publicada de EE.UU. N° 2006/0074075, presentada el 24 de junio de 2005. En otra realización, el agente adicional es *N*-(5-hidroxi-2,4-di-*tert*-butil-fenil)-4-oxo-1-*H*-quinolin-3-carboxamida. Estas combinaciones son útiles para el tratamiento de las enfermedades descritas en el presente documento incluyendo la fibrosis quística. Estas combinaciones también son útiles en los kits descritos en el presente documento.

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

Los compuestos de la presente invención o las composiciones farmacéuticamente aceptables de los mismos también se pueden incorporar a composiciones para el recubrimiento de un dispositivo médico implantable, tal como prótesis, válvulas artificiales, injertos vasculares, endoprótesis vasculares y catéteres. Por consiguiente, la presente invención, en otro aspecto, incluye una composición para el recubrimiento de un dispositivo implantable que comprende un compuesto de la presente invención como se ha descrito en general anteriormente, y en las clases y subclases del presente documento, y un vehículo adecuado para el recubrimiento de dicho dispositivo implantable. En otro aspecto más, la presente invención incluye un dispositivo implantable recubierto con una composición que comprende un compuesto de la presente invención como se ha descrito en general anteriormente, y en las clases y subclases del presente documento, y un vehículo adecuado para el recubrimiento de dicho dispositivo implantable. Los recubrimientos adecuados y la preparación general de los dispositivos implantables recubiertos se describen en las patentes de EE.UU. N° 6.099.562; 5.886.026; y 5.304.121. Los recubrimientos son normalmente materiales poliméricos biocompatibles tales como un polímero de hidrogel, polimetildisiloxano, policaprolactona, polietilenglicol, ácido poliláctico, acetato de vinilo de etileno, y las mezclas de los mismos. Opcionalmente, los recubrimientos se pueden revestir adicionalmente con una capa superior adecuada de fluorosilicona, polisacáridos, polietilenglicol, fosfolípidos o las combinaciones de los mismos para conferir las características de liberación controlada a la composición.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a la actividad moduladora del transportador ABC *in vitro* en una muestra biológica o un paciente (por ejemplo, *in vitro* o *in vivo*), cuyo método comprende administrar al paciente o poner en contacto dicha muestra biológica con un compuesto de fórmula I o con una composición que comprende dicho compuesto. La expresión "muestra biológica", como se usa en el presente documento, incluye, sin limitación, cultivos celulares o extractos de los mismos; material de biopsia obtenido de un mamífero o de extractos del mismo; y sangre, saliva, orina, heces, semen, lágrimas, u otros fluidos corporales o extractos de los mismos.

La modulación de la actividad del transportador ABC en una muestra biológica *in vitro* es útil para diversos fines que son conocidos por un experto en la materia. Los ejemplos de dichos fines incluyen, pero sin limitación, el estudio de los transportadores ABC en los fenómenos biológicos y patológicos; y la evaluación comparativa de nuevos moduladores de los transportadores ABC.

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

De acuerdo con una realización alternativa, la presente invención proporciona un método *in vitro* para aumentar el número de transportadores ABC funcionales en una membrana de una célula, que comprende la etapa de poner en contacto dicha célula con un compuesto de fórmula (I). La expresión "transportador ABC funcional", como se usa en el presente documento, significa un transportador ABC que es capaz tener de actividad de transporte. En realizaciones preferidas, dicho transportador ABC funcional es CFTR.

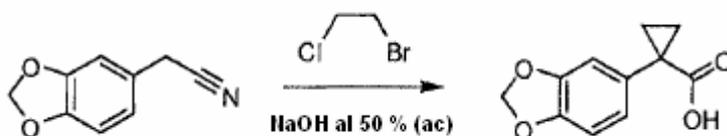
De acuerdo con otra realización preferida, la actividad del transportador ABC se mide midiendo el potencial del voltaje transmembrana. Los medios para medir el potencial de voltaje a través de una membrana en la muestra biológica pueden emplear cualquiera de los métodos conocidos en la técnica, tales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

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

- Estos ensayos sensibles al voltaje se basan en el cambio en la transferencia de energía por resonancia de fluorescencia (FRET) entre el colorante sensible al voltaje, soluble en la membrana, DiSBAC₂(3), y un fosfolípido fluorescente, CC2-DMPE, que está unido a la hoja externa de la membrana plasmática y que actúa como un donante de FRET. Los cambios en el potencial de la membrana (V_m) hacen que el DiSBAC₂(3) cargado negativamente se redistribuya a través de la membrana plasmática y que la cantidad de transferencia de energía del CC2-DMPE cambie en consecuencia. Los cambios en la emisión de fluorescencia se pueden controlar usando VIPR™ II, que es un manipulador de líquidos integrado y un detector fluorescente diseñado para llevar a cabo exploraciones basándose en células en placas de microtitulación de 96 o 384 pocillos.
- En otro aspecto, la presente invención proporciona un kit para su uso en la medición de la actividad de un transportador ABC o de un fragmento del mismo en una muestra biológica *in vitro* o *in vivo* que comprende (i) una composición que comprende un compuesto de fórmula (I) o cualquiera de las realizaciones anteriores; y (ii) instrucciones para a) poner en contacto la composición con la muestra biológica b) medir la actividad de dicho transportador ABC o de un fragmento del mismo. En una realización, el kit comprende además instrucciones para a) poner en contacto una composición adicional con la muestra biológica; b) medir la actividad de dicho transportador ABC o de un fragmento del mismo en presencia de dicho compuesto adicional, y c) comparar la actividad del transportador ABC en presencia del compuesto adicional con la densidad del transportador ABC en presencia de una composición de fórmula (I). En realizaciones preferidas, el kit se usa para medir la densidad de CFTR.
- Para que la invención descrita en el presente documento se pueda comprender mejor, se exponen los siguientes ejemplos. Se entenderá que dichos ejemplos se ofrecen únicamente a modo ilustrativo y no se han de considerar, bajo ningún concepto, como limitantes de la presente invención. Más adelante, se muestran las vías de síntesis ilustrativas de los compuestos reivindicados y ejemplificados.

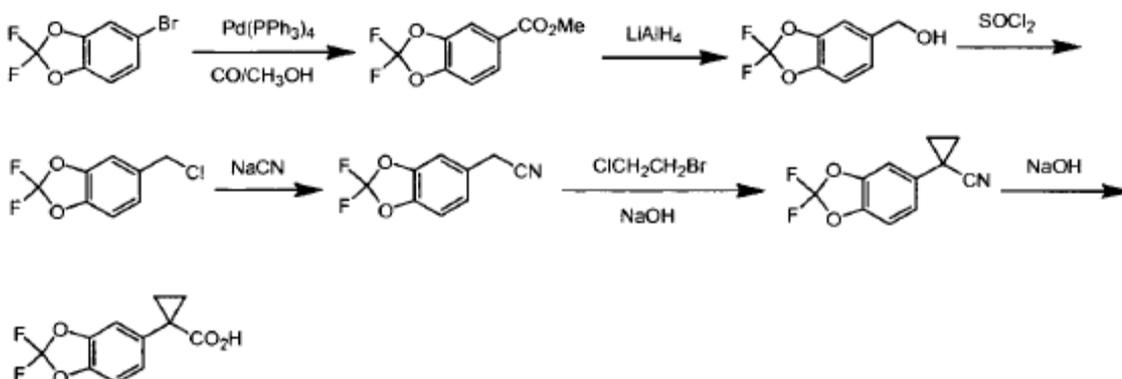
25 Ejemplos

Preparación de ácido 1-benzo[1,3]dioxol-5-il-ciclopropanocarboxílico



- Se calentó una mezcla de 2-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-il)acetonitrilo (5,10 g, 31,7 mmol), 1-bromo-2-cloro-etano (9,00 ml, 109 mmol) y cloruro de benciltriethylamonio (0,181 g, 0,795 mmol) hasta 70 °C y después se añadió lentamente a la mezcla hidróxido sódico acuoso (26 ml) al 50 % (p/p). Se agitó la reacción a 70 °C durante 24 horas y después se calentó hasta 130 °C durante 48 horas. La mezcla de reacción de color marrón oscuro se diluyó con agua (400 ml) y se extrajo una vez con un volumen igual de acetato de etilo y una vez con un volumen igual de diclorometano. Se acidificó la solución acuosa básica con ácido clorhídrico concentrado a pH inferior a 1, y se filtró el precipitado y se lavó con ácido clorhídrico 1 M. Se disolvió el material sólido en diclorometano (400 ml) y se extrajo dos veces con los mismos volúmenes de ácido clorhídrico 1 M y una vez con una solución acuosa saturada de cloruro sódico. Se secó la solución orgánica sobre sulfato sódico y se evaporó a sequedad, dando un sólido de color blanco a ligeramente blanquecino (5,23 g, 80 %). IEN-EM *m/z* calc.: 206,1; encontrado: 207,1 ($M+1$)⁺. Tiempo de retención: 2,37 minutos. RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 1,07-1,11 (m, 2H), 1,38-1,42 (m, 2H), 5,98 (s, 2H), 6,79 (m, 2H), 6,88 (m, 1H), 12,26 (s, 1H).

Preparación de ácido 1-(2, 2-difluoro-benzo[1, 3]dioxol-5-il)-ciclopropanocarboxílico



45

Etapa a: Éster metílico del ácido 2,2-difluoro-benzo[1,3]dioxol-5-carboxílico

5 Se agitó una solución de 5-bromo-2,2-difluoro-benzo[1,3]dioxol (11,8 g, 50,0 mmol) y tetraquis(trifenilfosfin)paladio (0) [Pd(PPh₃)₄, 5,78 g, 5,00 mmol] en metanol (20 ml) que contenía acetonitrilo (30 ml) y trietilamina (10 ml) en una atmósfera de monóxido de carbono (379 kPa) a 75 °C (temperatura del baño de aceite) durante 15 horas. Se filtró la mezcla de reacción enfriada y se evaporó el filtrado a sequedad. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice, dando el éster metílico del ácido 2,2-difluoro-benzo[1,3] dioxol-5-carboxílico (11,5 g) en bruto, que se usó directamente en la siguiente etapa.

10 Etapa b: (2,2-Difluoro-benzo[1,3]dioxol-5-il)-metanol

15 Se añadió lentamente el éster metílico del ácido 2,2-difluoro-benzo[1,3]dioxol-5-carboxílico (11,5 g) en bruto disuelto en 20 ml de tetrahidrofurano anhidro (THF) a una suspensión de hidruro de litio y aluminio (4,10 g, 106 mmol) en THF anhidro (100 ml) a 0 °C. A continuación, se calentó la mezcla hasta la temperatura ambiente. Tras agitar a temperatura ambiente durante 1 hora, se enfrió la mezcla de reacción hasta 0 °C y se trató con agua (4,1 g), seguida de hidróxido sódico (solución acuosa al 10 %, 4,1 ml). Se filtró la suspensión resultante y se lavó con THF. Se evaporó el filtrado combinado a sequedad y el residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice, dando (2,2-difluoro-benzo[1,3]dioxol-5-il)-metanol (7, 2 g, 76 % en dos etapas) en forma de un aceite incoloro.

20 Etapa c: 5-Clorometil-2,2-difluoro-benzo[1,3]dioxol

25 Se añadió lentamente cloruro de tionilo (45 g, 38 mmol) a una solución de (2,2-difluoro-benzo[1,3]dioxol-5-il)-metanol (7,2 g, 38 mmol) en diclorometano (200 ml) a 0 °C. Se agitó la mezcla resultante durante una noche a temperatura ambiente y después se evaporó a sequedad. El residuo se repartió entre una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico (100 ml) y diclorometano (100 ml). Se extrajo la capa acuosa separada con diclorometano (150 ml) y se secó la capa orgánica sobre sulfato sódico, se filtró y se evaporó a sequedad, dando 5-clorometil-2,2-difluorobenzol[1,3]dioxol (4,4 g) en bruto, que se usó directamente en la siguiente etapa.

30 Etapa d: (2,2-Difluoro-benzo[1,3]dioxol-5-il)-acetonitrilo

35 Se agitó una mezcla de 5-clorometil-2,2-difluoro-benzo[1,3]dioxol (4,4 g) en bruto y cianuro sódico (1,36 g, 27,8 mmol) en dimetilsulfóxido (50 ml) a temperatura ambiente durante una noche. Se vertió la mezcla de reacción en hielo y se extrajo con acetato de etilo (300 ml). Se secó la capa orgánica sobre sulfato sódico y se evaporó a sequedad, dando (2,2-difluoro-benzo[1,3]dioxol-5-il)-acetonitrilo (3,3 g) en bruto, que se usó directamente en la siguiente etapa.

Etapa e: 1-(2,2-Difluoro-benzo[1,3]dioxol-5-il)-ciclopropanocarbonitrilo

40 Se añadió lentamente hidróxido sódico (solución acuosa al 50 %, 10 ml) a una mezcla de (2,2-difluoro-benzo[1,3]dioxol-5-il)-acetonitrilo en bruto, cloruro de benciltrietilamonio (3,00 g, 15,3 mmol) y 1-bromo-2-cloroetano (4,9 g, 38 mmol) a 70 °C. Se agitó la mezcla durante una noche a 70 °C antes de diluir la mezcla de reacción con agua (30 ml) y se extrajo con acetato de etilo. Se secaron las capas orgánicas combinadas sobre sulfato sódico y se evaporaron a sequedad, dando 1-(2,2-difluoro-benzo[1,3]dioxol-5-il)-ciclopropanocarbonitrilo en bruto, que se usó directamente en la siguiente etapa.

45 Etapa f: Ácido 1-(2,2-difluoro-benzo[1,3]dioxol-5-il)-ciclopropanocarboxílico

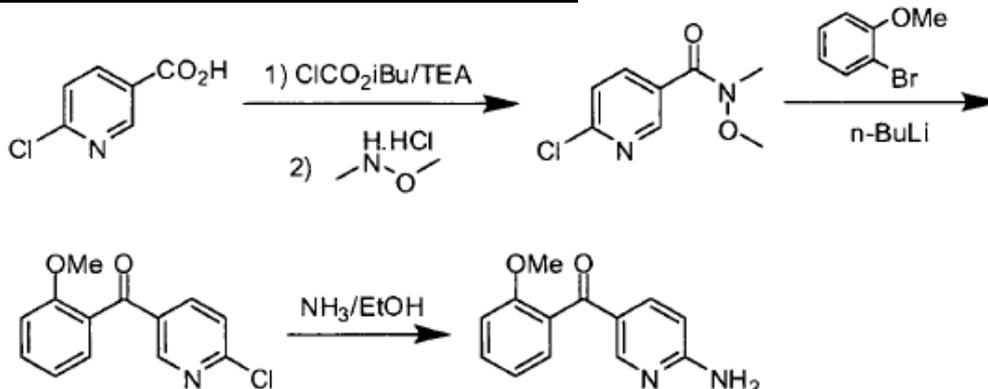
50 Se sometió 1-(2,2-difluoro-benzo[1,3]dioxol-5-il)-ciclopropanocarbonitrilo (en bruto, procedente de la última etapa) a reflujo en hidróxido sódico acuoso al 10 % (50 ml) durante 2,5 horas. Se lavó la mezcla de reacción enfriada con éter (100 ml) y se acidificó la capa acuosa a pH 2 con ácido clorhídrico 2 M. Se filtró el sólido precipitado, dando ácido 1-(2,2-difluoro-benzo[1,3]dioxol-5-il)-ciclopropanocarboxílico en forma de un sólido de color blanco (0,15 g, al 2 % durante cuatro etapas). IEN-EM *m/z* calc. 242,2; encontrado 243,3; RMN de ¹H (CDCl₃) δ 7,14-7,04 (m, 2H), 6,98-6,96 (m, 1H), 1,74-1,64 (m, 2H), 1,26-1,08 (m, 2H).

55 La siguiente Tabla 2 contiene una lista de componentes básicos de ácido carboxílico que se encontraban disponibles en el mercado o que se prepararon mediante los métodos descritos anteriormente.

Tabla 2: Componentes básicos de ácido carboxílico

| Nombre | Estructura |
|---|------------|
| Ácido 1-(2-metoxifenil)ciclopropan-1-carboxílico | |
| Ácido 1-(3-metoxifenil)ciclopropan-1-carboxílico | |
| Ácido 1-(4-metoxifenil)ciclopropan-1-carboxílico | |
| Ácido 1-[4-(trifluorometoxi)fenil]ciclopropan-1-carboxílico | |
| Ácido 1-fenilciclopropan-1-carboxílico | |
| Ácido 1-(4-clorofenil)ciclopropan-1-carboxílico | |
| Ácido 1-(3,4-dimetoxifenil)ciclopropano-carboxílico | |
| Ácido 1-(4-(metiltio)fenil)ciclopropano-carboxílico | |
| Ácido 1-p-tolilciclopropano-carboxílico | |

Preparación de (6-aminopiridin-3-il)(2-metoxifenil)metanona



Etapa a: 6-Cloro-N-metoxi-N-metil-nicotinamida

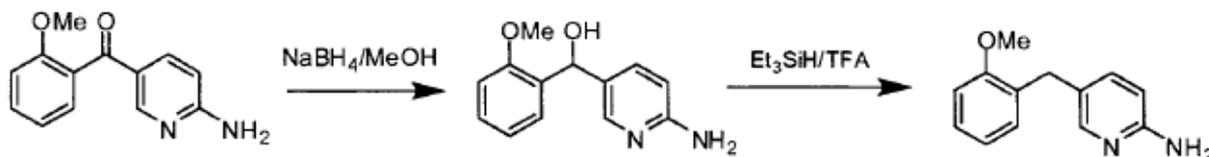
A una solución de ácido 6-cloro-nicotínico (94,5 g, 0,6 mol) en diclorometano (1.000 ml), se añadió *N*-metil-morfolina (181,8 g, 1,8 mol) seguida de formiato de *iso*-butilo (81,9 g diclorometano, 0,6 mol) a -25 °C en atmósfera de N₂. Se agitó la mezcla durante 15 minutos y después se añadió clorhidrato de *O,N*-dimetil-hidroxilamina (64,35 g, 0,66 mol). Se agitó la mezcla durante 30 min a -25 °C y se calentó hasta la temperatura ambiente lentamente. Se agitó la mezcla durante una hora más a temperatura ambiente y se añadió una solución saturada de NaHCO₃ (800 ml). Se extrajo la capa acuosa separada con diclorometano (500 ml x 3). Se lavaron las capas orgánicas combinadas con agua y salmuera. Se evaporó el disolvente, dando el producto en bruto, que se purificó por cromatografía en columna, dando el producto puro 6-cloro-*N*-metoxi-*N*-metil-nicotinamida en forma de un sólido de color blanco (56 g, 46,6 %).

Etapa b: (6-Cloropiridin-3-il)-(2-metoxifenil)-metanona

A una solución de 1-bromo-2-metoxi-benceno (49,2 g, 0,263 mol) en THF seco (500 ml, se añadió gota a gota *n*-BuLi (2,5 M en hexano, 105 ml, 0,263 mol) a -78 °C en atmósfera de N₂. Se agitó la mezcla a esta temperatura durante 1 hora, y después se añadió una solución de 6-cloro-*N*-metoxi-*N*-metil-nicotinamida (50 g, 0,25 mol) en THF (100 ml) gota a gota. Se calentó la mezcla de reacción a temperatura ambiente, se agitó durante la noche y luego se inactivó con una solución saturada de NH₄Cl (300 ml). Se extrajo la capa acuosa separada con acetato de etilo (3 x 300 ml). Se lavaron las capas orgánicas combinadas con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄, se evaporaron al vacío, dando el producto en bruto, que se purificó por cromatografía en columna, dando (6-cloropiridin-3-il)-(2-metoxifenil)-metanona en forma de un sólido de color blanco (31 g, 47,6 %).

Etapa c: (6-Amino-piridin-3-il)-(2-metoxifenil)-metanona

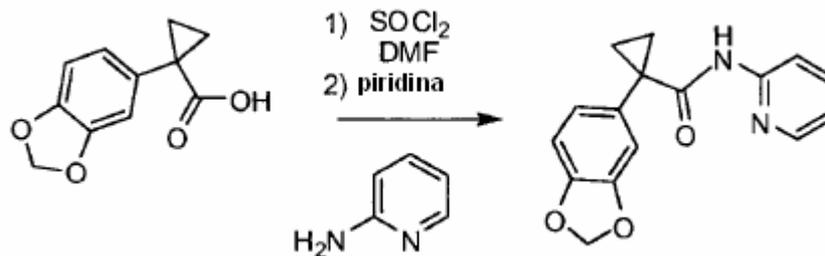
Se colocó una solución de 6-cloro-piridin-3-il)-(2-metoxi-fenil)-metanona (30 g, 0,121 mol) en etanol (150 ml) y amoniaco anhidro (100 ml) en una bomba y se calentó hasta 45 °C durante 16 horas. Se retiraron los disolventes al vacío y el residuo se purificó por cromatografía en columna, dando (6-amino-piridin-3-il)-(2-metoxifenil)-metanona (18 g, 65,2 %). RMN de ¹H (DMSO-d₆) δ 8,12 (s, 1H), 7,68 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 7,47 (t, J = 7,2, 1H), 7,21 (d, J = 7,2, 1H), 7,13 (d, J = 7,2, 1H), 7,03 (d, 1H), 6,96 (ancho, 2H), 6,44 (d, J = 8,8, 1H), 3,69 (s, 3 H). EM (IEN) m/e (M + H⁺) 229,27.

Preparación de 5-(2-metoxibencil)piridin-2-amina**Etapa a: (6-Aminopiridin-3-il)-(2-metoxifenil)-metanol**

A una solución de (6-amino-piridin-3-il)-(2-metoxi-fenil)-metanona (14 g, 61,4 mol) en CH₃OH (150 ml), se añadió NaBH₄ (3,48 g, 92,1 mmol) en porciones a 0 °C. Una vez completada la adición, se calentó la reacción hasta la temperatura ambiente y se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Se eliminó el disolvente al vacío y se añadió agua (100 ml) al residuo. Se extrajo la mezcla con diclorometano (100 ml x 3). Se lavaron las capas orgánicas combinadas con solución saturada de NaHCO₃ y salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron al vacío, dando un producto en bruto que se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Etapa b: 5-(2-Metoxi-bencil)-piridin-2-ilamina

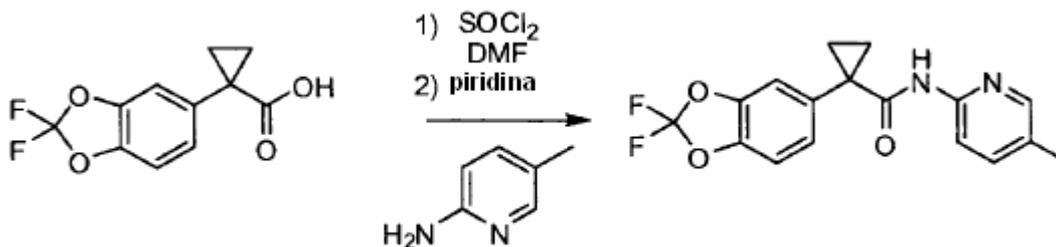
En una mezcla del compuesto en bruto de la etapa anterior, se agitó Et₃SiH (57 g, 491 mmol) y TFA (112 g, 982 mmol) en CH₂Cl₂ (150 ml) a temperatura ambiente durante la noche. Se eliminó el exceso de Et₃SiH, TFA y CH₂Cl₂ a presión reducida. Se agitó el residuo en agua, se filtró el precipitado sólido, se lavó con éter dietílico y éter de petróleo, dando 5-(2-metoxi-bencil)-piridin-2-ilamina en forma de sal de TFA. (5 g, 24,8 % para 2 etapas). RMN de ¹H (DMSO-d₆) δ 13,5 (ancho, 1 H), 7,93 (s ancho, 2 H), 7,75-7,73 (m, 2 H), 7,22 (t, J = 8,0 Hz, 1H), 7,19 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 6,98 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 6,90-6,86 (m, 2H), 3,77 (s, 2H), 3,76 (s, 3H). EM (IEN) m/e (M + H⁺) 215,27.

Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida

5 Se colocó ácido 1-benzo[1,3]dioxol-5-il-ciclopropanocarboxílico (41 mg, 0,20 mmol) en un matraz secado al horno en atmósfera de nitrógeno. Se añadió cloruro de tionilo (0,3 ml) y *N,N*-dimetilformamida (0,03 ml) y se dejó en agitación la solución durante 10 minutos a temperatura ambiente. Se eliminó el exceso de cloruro de tionilo al vacío, y se suspendió el sólido resultante en piridina anhidra (1 ml). Se añadió lentamente esta solución a una solución de piridin-2-amina (19 mg, 0,20 mmol) en piridina anhidra (1 ml). Se dejó la mezcla resultante en agitación durante 15 horas a 110 °C. A continuación, se filtró el producto en bruto, se evaporó a sequedad, se disolvió en *N,N*-dimetilformamida (1 ml) y se purificó por cromatografía líquida preparativa utilizando un gradiente de acetonitrilo al 0-99 % en agua que contenía ácido trifluoroacético al 0,05 %, produciendo el producto puro (5,9 mg, 0,021 mmol, 10 %). IEN-EM calc *m/z*. 282,1; encontrado 283,1 (*M* + 1)⁺. Tiempo de retención: 2,13 minutos.

Preparación de 1-(2,2-difluorobenzod[1,3]dioxol-5-il)-N-(5-metilpiridin-2-il)ciclopropanocarboxamida

15

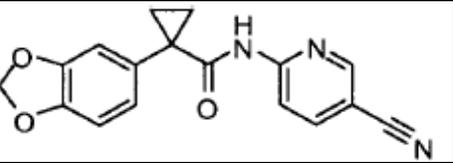
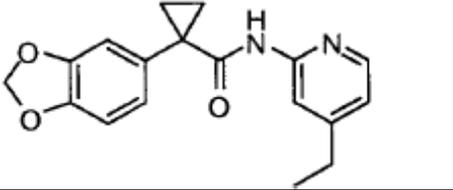
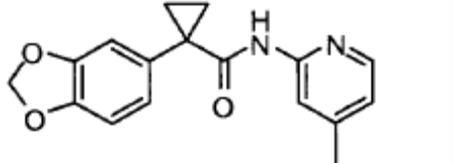
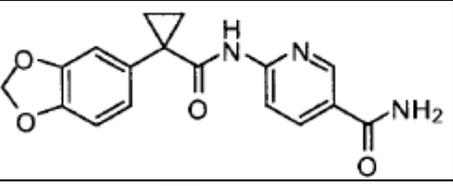
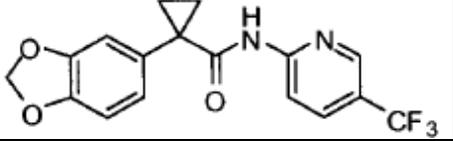
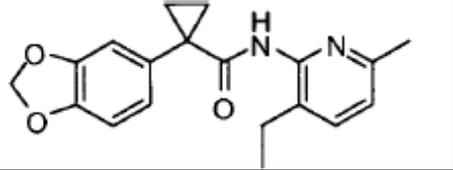
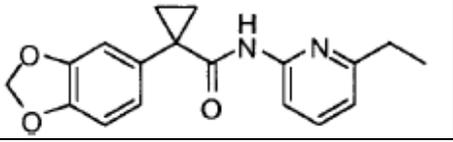
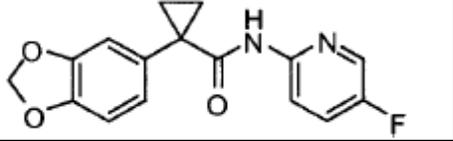
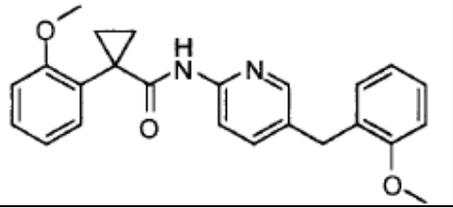
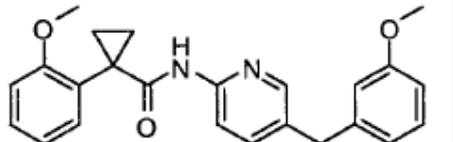


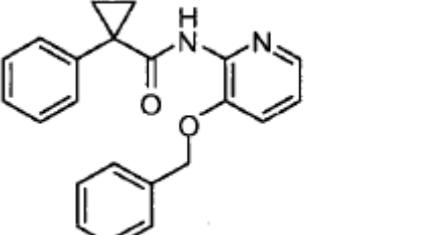
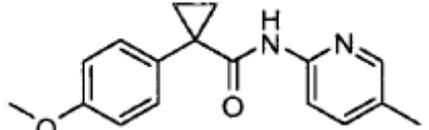
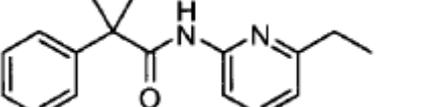
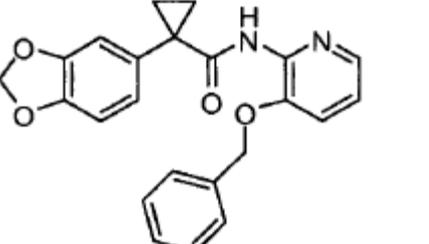
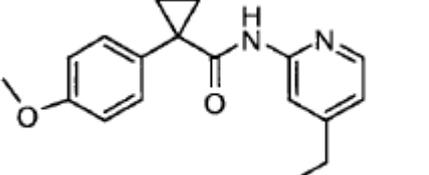
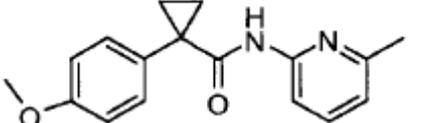
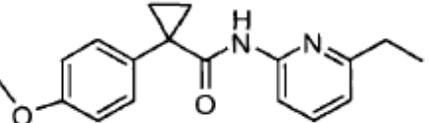
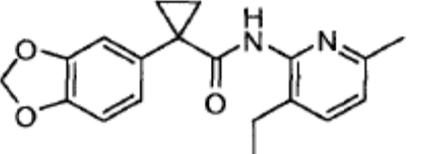
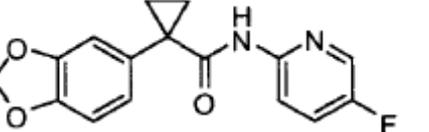
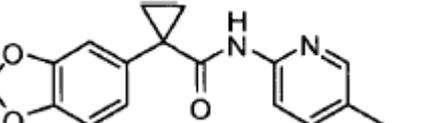
20 Se colocó ácido 1-(2,2-difluorobenzod[1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarboxílico (2,32 g, 9,58 mmol) en un matraz secado al horno en atmósfera de nitrógeno. Se añadió cloruro de tionilo (3 ml) y *N,N*-dimetilformamida (0,3 ml), y se dejó la solución en agitación durante 30 minutos a temperatura ambiente. Se eliminó el exceso de cloruro de tionilo al vacío, y se suspendió el sólido resultante en diclorometano anhidro (10 ml). Se añadió esta solución lentamente a una solución de 5-metil-piridin-2-amina (0,798 g, 7,38 mmol) en diclorometano anhidro (10 ml) que contenía trietilamina (4,11 ml, 29,5 mmol). Se dejó la mezcla resultante en agitación durante 15 horas a temperatura ambiente. Después, se lavó el producto en bruto dos veces con una solución acuosa 1 M de ácido clorhídrico, dos veces con una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio y, finalmente, dos veces con una solución acuosa saturada de cloruro de sodio. Se secó la capa orgánica sobre sulfato de sodio, se evaporó casi a sequedad, y después se purificó sobre 120 g de gel de sílice utilizando un gradiente de acetato de etilo al 0-30 % en hexanos, dando el producto puro (1,20 g, 3,60 mmol, 48,7 %). IEN-EM calc *m/z*. 332,1; encontrado 333,1 (*M* + 1)⁺. Tiempo de retención: 1,48 minutos.

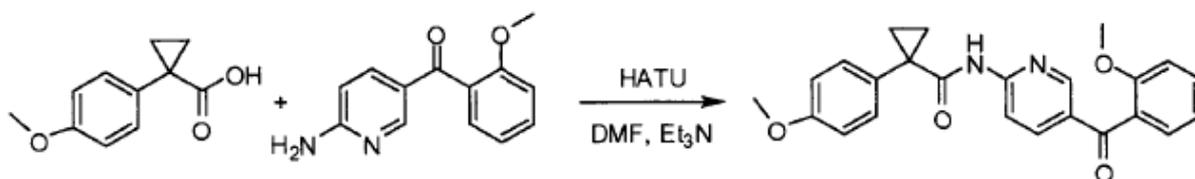
30 Los compuestos enumerados en la siguiente Tabla 3 se prepararon de una manera análoga a la descrita anteriormente a partir de los reactivos apropiados:

Tabla 3

| Nombre | Estructura |
|---|------------|
| 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(6-metilpiridin-2-il)ciclopropanocarboxamida | |
| 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-metilpiridin-2-il)ciclopropanocarboxamida | |

| | |
|---|--|
| 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-cianopiridin-2-il) ciclopropanocarboxamida |  |
| 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(4-etilpiridin-2-il)ciclopropanocarboxamida |  |
| 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(4-metilpiridin-2-il) ciclopropanocarboxamida |  |
| 6-(1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarboxamido)nicotinamida |  |
| 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-(trifluorometil)piridin-2-il) ciclopropanocarboxamida |  |
| 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(3-etil-6-metilpiridin-2-il) ciclopropanocarboxamida |  |
| 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(6-etilpiridin-2-il)ciclopropanocarboxamida |  |
| 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-fluoropiridin-2-il) ciclopropanocarboxamida |  |
| N-(5-(2-metoxibencil)piridin-2-il)-1-(2-metoxifenil) ciclopropanocarboxamida |  |
| N-(5-(3-metoxibencil)piridin-2-il)-1-(2-metoxifenil) ciclopropanocarboxamida |  |

| | |
|--|--|
| <p><i>N</i>-(3-(benciloxi)piridin-2-il)-1-fenilciclopropanocarboxamida</p> |  |
| <p>1-(4-metoxifenil)-<i>N</i>-(5-metilpiridin-2-il)ciclopropanocarboxamida</p> |  |
| <p><i>N</i>-(6-etilpiridin-2-il)-1-fenilciclopropanocarboxamida</p> |  |
| <p>1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-<i>N</i>-(3-(benciloxi)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida</p> |  |
| <p><i>N</i>-(4-etilpiridin-2-il)-1-(4-metoxifenil)ciclopropanocarboxamida</p> |  |
| <p>1-(4-metoxifenil)-<i>N</i>-(6-metilpiridin-2-il)ciclopropanocarboxamida</p> |  |
| <p><i>N</i>-(6-etilpiridin-2-il)-1-(4-metoxifenil)ciclopropanocarboxamida</p> |  |
| <p>1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-<i>N</i>-(3-etil-6-metilpiridin-2-il)ciclopropanocarboxamida</p> |  |
| <p>1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-<i>N</i>-(5-fluoropiridin-2-il)ciclopropanocarboxamida</p> |  |
| <p>1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-<i>N</i>-(5-metilpiridin-2-il)ciclopropanocarboxamida</p> |  |

Preparación de *N*-(5-(2-metoxibenzoil)piridin-2-il)-1-(4-metoxifenil)ciclopropanocarboxamida

- 5 Se disolvieron ácido 1-(4-metoxifenil)ciclopropanocarboxílico (19,2 mg, 0,100 mmol) y (6-aminopiridin-3-il)(2-metoxifenil)metanona (22,8 g, 0,100 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (DMF, 0,7 ml) que contenía trietilamina (0,042 ml, 0,300 mmol). Se añadió hexafluorofosfato de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio (HATU, 38,0 mg, 0,100 mmol), y se dejó la solución en agitación durante 72 horas a 70 °C. Después, se purificó la mezcla por cromatografía líquida preparativa de fase inversa utilizando un gradiente de acetonitrilo al 0-99 % en agua que contenía ácido trifluoroacético al 0,05 %, produciendo el producto puro (4,2 mg, 0,010 mmol, 10 %). IEN-EM *m/z*. calc.:402,2; encontrado: 403.5 (*M* + 1)⁺. Tiempo de retención: 3,50 minutos.

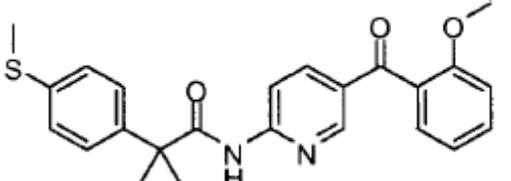
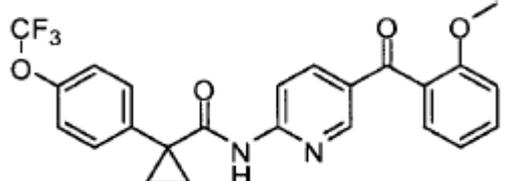
Los compuestos enumerados en la siguiente Tabla 4 se prepararon de manera análoga a la de *N*-(5-(2-metoxibenzoil)piridin-2-il)-1-(4-metoxifenil)ciclopropanocarboxamida a partir de los reactivos apropiados:

15

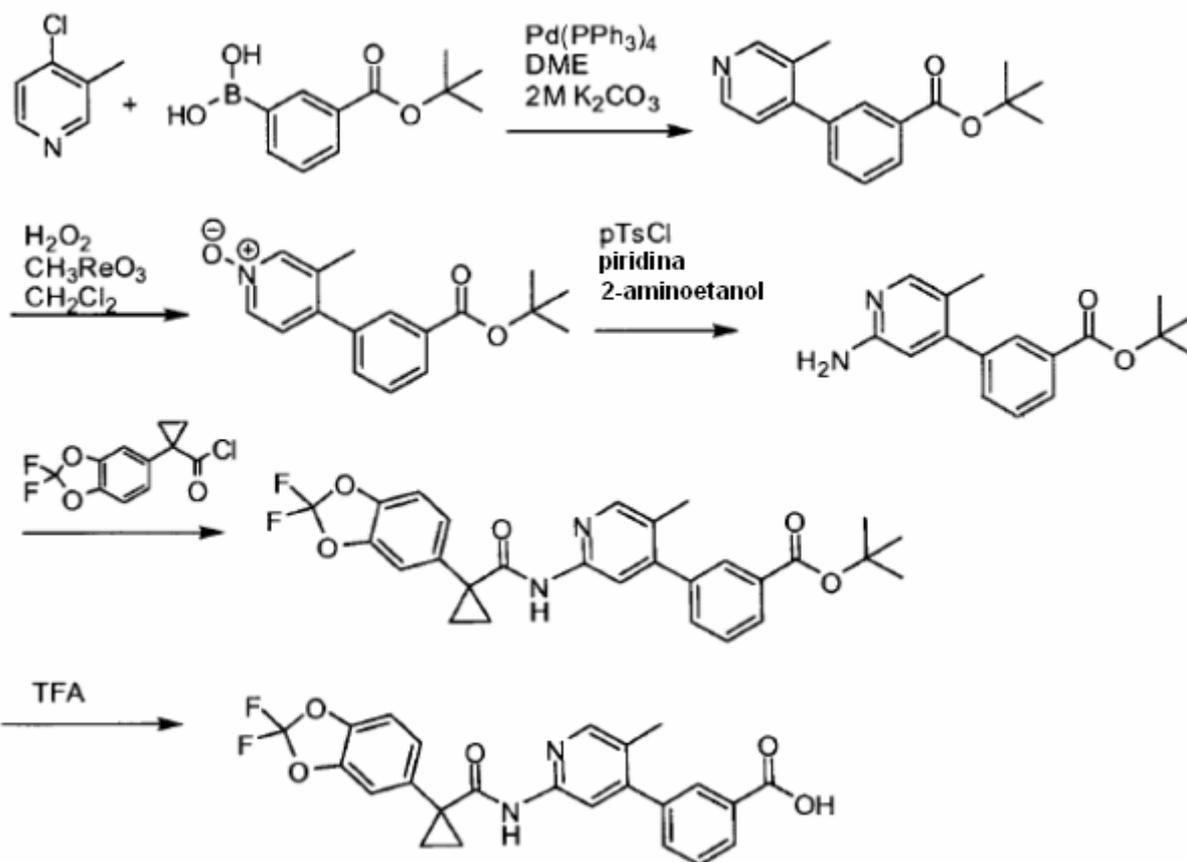
Tabla 4.

| Nombre | Estructura |
|--|------------|
| <i>N</i> -(5-(2-metoxibencil)piridin-2-il)-1-(4-metoxifenil)ciclopropanocarboxamida | |
| 1-(benzo[<i>d</i>][1,3]dioxol-5-il)- <i>N</i> -(5-(2-metoxibencil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida | |
| 1-(benzo[<i>d</i>][1,3]dioxol-5-il)- <i>N</i> -(5-(2-metoxibezoil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida | |
| <i>N</i> -(5-(2-metoxibezoil)piridin-2-il)-1-(4-metoxifenil)ciclopropanocarboxamida | |
| <i>N</i> -(5-(2-metoxibencil)piridin-2-il)-1- <i>p</i> -tolilciclopropanocarboxamida | |
| 1-(4-clorofenil)- <i>N</i> -(5-(2-metoxibencil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida | |

| | |
|--|--|
| 1-(3,4-dimetoxifenil)- <i>N</i> -(5-(2-metoxibencil)piridin-2-il) ciclopropanocarboxamida | |
| 1-(3-metoxifenil)- <i>N</i> -(5-(2-metoxibencil)piridin-2-il) ciclopropanocarboxamida | |
| <i>N</i> -(5-(2-metoxibencil)piridin-2-il)-1-(4-(trifluorometoxi)fenil)ciclopropanocarboxamida | |
| <i>N</i> -(5-(2-metoxibezoil)piridin-2-il)-1-fenilciclopropanocarboxamida | |
| <i>N</i> -(5-(2-metoxibezoil)piridin-2-il)-1- <i>p</i> -tolilciclopropanocarboxamida | |
| 1-(4-clorofenil)- <i>N</i> -(5-(2-metoxibezoil)piridin-2-il) ciclopropanocarboxamida | |
| 1-(2,2-difluorobenzo[<i>d</i>][1,3]dioxol-5-il)- <i>N</i> -(5-(2-metoxibezoil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida | |
| 1-(3,4-dimetoxifenil)- <i>N</i> -(5-(2-metoxibezoil)piridin-2-il) ciclopropanocarboxamida | |
| <i>N</i> -(5-(2-metoxibezoil)piridin-2-il)-1-(2-metoxifenil) ciclopropanocarboxamida | |

| | |
|---|--|
| <p>N-(5-(2-metoxibezoilo)piridin-2-il)-1-(4-(metiltio)fenil) ciclopropanocarboxamida</p> |  |
| <p>N-(5-(2-metoxibezoilo)piridin-2-il)-1-(-(trifluorometoxi)fenil)ciclopropanocarboxamida</p> |  |

Preparación de ácido 3-(2-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarboxamido)-5-metil-piridin-4-il)benzoico



5 Etapa a: 3-(3-Metil-piridin-4-il)benzoato *terc*-butílico

Se suspendieron 4-cloro-3-metilpiridina (2,00 g, 15,7 mmol), ácido 3-(*terc*-butoxicarbonil)fenilborónico (5,42 g, 24,4 mmol), una solución acuosa 2 M de carbonato de potasio (31,4 ml, 62,8 mmol) y tetraquis(trifenilfosfin)paladio (Pd(PPh₃)₄, 0,906 g, 0,784 mmol) en 1,2-dimetoxietano (DME, 150 ml). Se agitó la mezcla resultante y se calentó hasta 80 °C durante 60 horas. Se enfrió la mezcla de reacción bruta hasta la temperatura ambiente y luego se separaron las capas. Se evaporó la capa orgánica a sequedad y después se purificó en 120 g de gel de sílice utilizando un gradiente de acetato de etilo al 0-70 % en hexanos, dando el producto puro en forma de un aceite de color amarillo pálido (3,02 g, 11,2 mmol, 71,4 %).

15 Etapa b: 1-Óxido de 4-(3-(*terc*-butoxicarbonil)fenil)-3-metil-piridina

Se disolvió 3-(3-metil-piridin-4-il)benzoato *terc*-butílico (0,500 g, 1,86 mmol) en una mezcla de diclorometano (0,800 ml) y peróxido de hidrógeno al 30 % (0,421 ml). Se añadió metiltrioxo-renio (VII) (2,3 mg, 0,92 mmol) y se agitó la mezcla de reacción vigorosamente durante 5 horas. Se separaron las capas y se trató la capa orgánica con sulfito de sodio, y después se secó sobre sulfato de sodio. Se filtró el producto bruto, se evaporó a sequedad y se

usó sin purificación adicional. IEN-EM m/z calc.: 285,1; encontrado: 286,1 ($M + 1$)⁺. Tiempo de retención: 1,22 minutos.

Etapa c: 3-(2-Amino-5-metil-piridin-4-il)benzoato *terc*-butílico

5 Se disolvió 1-óxido de 4-(3-(*terc*-butoxicarbonil)fenil)-3-metil-piridina (0,467 g, 1,64 mmol) en una mezcla de piridina (0,53 ml) y acetonitrilo (15 ml) en una atmósfera de argón. Se añadió cloruro de 4-metilbenceno-1-sulfonilo (0,406 g, 2,13 mmol) y se agitó la mezcla de reacción a 75 °C durante 72 horas. Después, se añadió etanolamina (7 ml) y se dejó la mezcla de reacción en agitación durante 5 minutos a temperatura ambiente. Se repartió el
10 producto bruto entre diclorometano y una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio. Se separaron las capas y se lavó la capa orgánica con una solución acuosa saturada de cloruro de sodio. Se secó la capa orgánica sobre sulfato de sodio y después se purificó sobre 40 g de gel de sílice utilizando un gradiente de acetato de etilo al 0-100 % en hexanos, dando el producto puro (0,169 g, 0,594 mmol, 36,3 %). IEN-EM m/z calc.: 284,2; encontrado: 285,1 ($M + 1$)⁺. Tiempo de retención: 1,28 minutos. RMN de ¹H (400,0 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,94-7,91 (m, 1H), 7,84 (s, 1H), 7,79 (d, J = 1,7 Hz, 1H), 7,62-7,56 (m, 2H), 6,33 (s, 1H), 5,78 (s, 2H), 1,99 (s, 3H), 1,55 (s, 9H).

Etapa d: 3-(2-(1-(2,2-Difluorobenzo[*d*][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarboxamido)-5-metilpiridin-4-il)benzoato *terc*-butílico

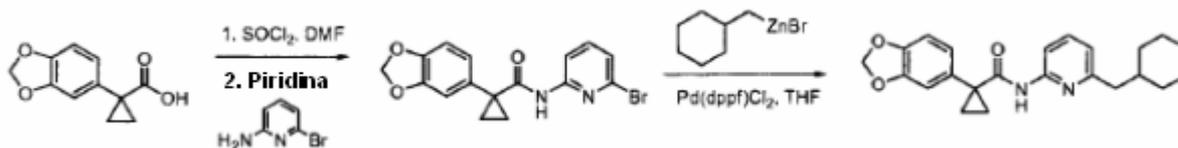
20 Se colocó ácido 1-(2,2-difluorobenzo[*d*][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarboxílico (144 mg, 0,593 mmol) en un matraz secado al horno en atmósfera de nitrógeno. Se añadieron cloruro de tionilo (1 ml) y *N,N*-dimetilformamida (0,1 ml), y se dejó la solución en agitación durante 30 minutos a temperatura ambiente. Se eliminó el exceso de cloruro de tionilo al vacío y se suspendió el sólido resultante en 2 ml de diclorometano anhidro. Se añadió esta solución lentamente a una solución de 3-(2-amino-5-metil-piridin-4-il)benzoato *terc*-butílico (129 mg, 0,454 mmol) en 5 ml de
25 diclorometano anhidro que contenía trietilamina (0,165 ml, 1,19 mmol). Se dejó la mezcla resultante en agitación durante 15 horas a temperatura ambiente. Se evaporó el producto bruto a sequedad y después se purificó en 12 g de gel de sílice utilizando un gradiente de acetato de etilo al 0-40 % en hexanos, dando el producto puro en forma de un sólido amarillo (162 mg, 0,319 mmol, 70,3 %). IEN-EM m/z calc.: 508,2; encontrado: 509,1 ($M + 1$)⁺. Tiempo de retención: 2,22 minutos. RMN de ¹H (400,0 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,85 (s, 1H), 8,18 (s, 1H), 7,98-7,96 (m, 1H), 7,89 (s, 1H), 7,82 (d, J = 1,6 Hz, 1H), 7,64-7,62 (m, 2H), 7,57 (d, J = 1,6 Hz, 1H), 7,42 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,34 (dd, J = 1,7; 8,3 Hz, 1H), 2,14 (s, 3H), 1,55 (s, 9H), 1,51-1,49 (m, 2H) 1,19-1,15 (m, 2H).

Etapa e: Ácido 3-(2-(1-(2,2-difluorobenzo[*d*][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarboxamido)-5-metil-piridin-4-il)benzoico

35 Se disolvió 3-(2-(1-(2,2-difluorobenzo[*d*][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarboxamido)-5-metil-piridin-4-il)benzoato *terc*-butílico (40 mg, 0,079 mmol) en diclorometano (1 ml). Se añadió ácido trifluoroacético (0,500 ml) y se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 1 hora. Se evaporó la mezcla de reacción bruta a sequedad, dando el producto puro. IEN-EM m/z calc.: 452,1; encontrado: 453,0 ($M + 1$)⁺. Tiempo de retención: 1,64 minutos. RMN de ¹H (400,0 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,01 (s, 1H), 8,22 (s, 1H), 8,03-8,00 (m, 1H), 7,89 (d, J = 2,5 Hz, 2H), 7,68-7,64 (m, 2H), 7,58 (d, J = 1,6 Hz, 1H), 7,43 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,35 (dd, J = 1,7; 8,3 Hz, 1H), 2,18 (s, 3H), 1,54-1,51 (m, 2H), 1,21-1,17 (m, 2H).

Preparación de 1-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-il)-*N*-(6-(ciclohexilmetil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida

45



Etapa a: 1-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-il)-*N*-(6-bromopiridin-2-il)ciclopropanocarboxamida

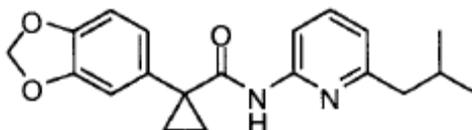
50 A ácido 1-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarboxílico (2,4 g, 11,6 mmol) en cloruro de tionilo (2,5 ml, 34,7 mmol), se añadió *N,N*-dimetilformamida (0,1 ml). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 30 minutos antes de evaporarla a sequedad, dando el cloruro de ácido.

55 A 6-bromopiridin-2-amina (2,0 g, 11,6 mmol) en piridina (10 ml), se añadió el cloruro de ácido. Se calentó la reacción hasta 100 °C durante 12 horas. Se diluyó la reacción con diclorometano (30 ml) y se lavó con NaOH 1 N (3 x 20 ml). Se secaron las capas orgánicas sobre Na₂SO₄ y se evaporaron a sequedad. El material en bruto se purificó por cromatografía en gel de sílice (eluyendo con acetato de etilo al 0-50 % en hexanos), dando el producto (2,9 g, 8,0 mmol, 70 %). IEN-EM m/z calc.: 360,01; encontrado: 361,1 ($M + 1$)⁺. Tiempo de retención: 3,59 minutos.

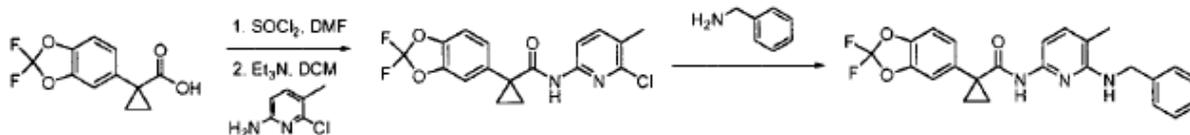
60

Etapa b: 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(6-(ciclohexilmetil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida

A una solución 0,5 M de bromuro de (ciclohexilmetil)cinc (II) en THF (0,8 ml, 0,4 mmol), se añadió [1,1'-bis (difenilfosfin)ferrocen]dicloropaladio (II) (8 mg, 0,01 mmol) y se agitó la reacción bajo nitrógeno durante 20 minutos. Se añadió 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(6-bromopiridin-2-il)ciclopropanocarboxamida (36 mg, 0,1 mmol) y se irradió la reacción en un microondas durante 10 minutos a 150 °C. Se inactivó la reacción con una solución saturada de cloruro de amonio (2 ml) y una solución saturada de sal disódica de ácido etilendiamin-tetraacético (2 ml). Se agitó la mezcla durante 30 minutos antes de extraerla con diclorometano (3 x 4 ml). Se secaron las capas orgánicas sobre Na₂SO₄ y se evaporaron. Se disolvió el producto bruto en DMSO (1 ml) y se purificó por cromatografía líquida preparativa de fase inversa utilizando un gradiente de acetonitrilo al 0-99 % en agua que contenía ácido trifluoroacético al 0,05 %, produciendo el producto puro (20 mg, 0,05 mmol, 50 %). IEN-EM *m/z* calc.: 378,19; encontrado: 379,1 (M + 1)⁺; tiempo de retención: 3,55 minutos.

Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(6-isobutilpiridin-2-il)ciclopropanocarboxamida

Se preparó 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(6-isobutilpiridin-2-il)ciclopropanocarboxamida a partir de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(6-bromopiridin-2-il)ciclopropanocarboxamida y cloruro de isobutil-cinc(II) de una manera análoga a la de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(6-(ciclohexilmetil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida.

Preparación de N-(6-(bencilamino)-5-metil-piridin-2-il)-1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarboxamida**Etapa a: N-(6-cloro-5-metil-piridin-2-il)-1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarboxamida**

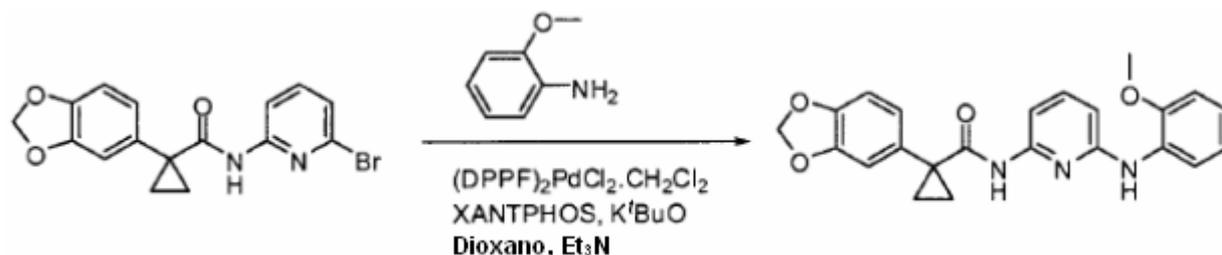
A ácido 1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarboxílico (18,8 g, 78 mmol) en cloruro de tionilo (17 ml, 233 mmol), se añadió *N,N*-dimetilformamida (0,2 ml, 2,6 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante dos horas. Se eliminaron el cloruro de tionilo en exceso y la *N,N*-dimetilformamida al vacío, y el cloruro de ácido resultante se usó directamente en la siguiente etapa.

A una solución de 6-cloro-5-metil-piridin-2-amina (11,1 g, 78 mmol) y trietilamina (22,0 ml, 156 mmol) en diclorometano (100 ml), se añadió una solución de cloruro de 1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarbonilo (20,3 g, 78 mmol) en diclorometano (50 ml). Se dejó mezcla de reacción resultante en agitación a temperatura ambiente durante dieciocho horas. Se lavó la mezcla de reacción con NaOH acuoso 1 N (2 x 200 ml), HCl acuoso 1 N (1 x 200 ml) y NaHCO₃ en solución acuosa saturada (1 x 200 ml). Se secaron las capas orgánicas sobre sulfato de sodio y se evaporaron, dando el producto (26,9 g, 73,3 mmol, 94 % en 2 etapas). IEN-EM *m/z* calc.: 366,06; encontrado: 367,3 (M + 1)⁺. Tiempo de retención: 2,19 minutos. RMN de ¹H (400,0 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,30 (s, 1H), 7,89-7,87 (m, 1H), 7,78-7,76 (m, 1H), 7,54-7,53 (m, 1H), 7,41-7,39 (m, 1H), 7,33-7,30 (m, 1H), 2,26 (s, 3H), 1,52-1,49 (m, 2H), 1,19-1,16 (m, 2H).

Etapa b. N-(6-(bencilamin)-5-metil-piridin-2-il)-1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarboxamida

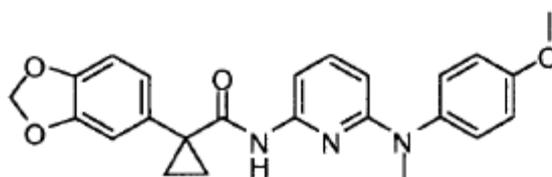
A bencilamina (0,5 ml, 4,6 mmol), se añadió *N*-(6-cloro-5-metil-piridin-2-il)-1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarboxamida (37 mg, 0,1 mmol), y se irradió la mezcla de reacción en un microondas a 170 °C durante 60 minutos. El producto bruto se purificó por cromatografía líquida preparativa de fase inversa utilizando un gradiente de acetonitrilo al 0-99 % en agua que contenía ácido trifluoroacético al 0,05 %, produciéndose el producto puro. IEN-EM *m/z* calc.: 437,4; encontrado: 438,3 (M + 1)⁺; tiempo de retención: 1,83 minutos.

50

Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(6-(2-metoxifenilamino)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida

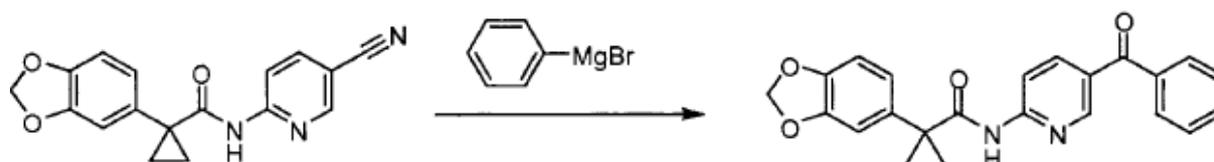
- 5 A 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(6-bromopiridin-2-il)ciclopropanocarboxamida (72 mg, 0,2 mmol), XANTPHOS (7,00 mg, 0,008 mmol), K^tBuO (31 mg, 0,28 mmol), (DPPF)₂PdCl₂•CH₂Cl₂ (33,00 mg, 0,24 mmol) y 2-metoxianilina (30 mg, 0,24 mmol), se añadieron 1,4-dioxano (0,400 ml) y trietilamina (0,200 ml). Se calentó la mezcla de reacción hasta 150 °C en un reactor de microondas durante 10 minutos. Se enfrió el material resultante hasta la temperatura ambiente. Se evaporó el disolvente a presión reducida. Se disolvió la mezcla resultante en diclorometano y se lavó con H₂O. Se secó la capa orgánica sobre Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a presión reducida. El producto bruto se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice, produciendo 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(6-(2-metoxifenilamino)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida que luego se trató con HCl en MeOH, formando la sal HCl (2,4 mg, 0,0055 mmol, 2,7 %). IEN-EM *m/z* calc.: 403,1; encontrado: 404,5 (M + 1)⁺; tiempo de retención: 3,01 minutos.

15 **Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(6-((2-metoxifenil)(metil)amino)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida**



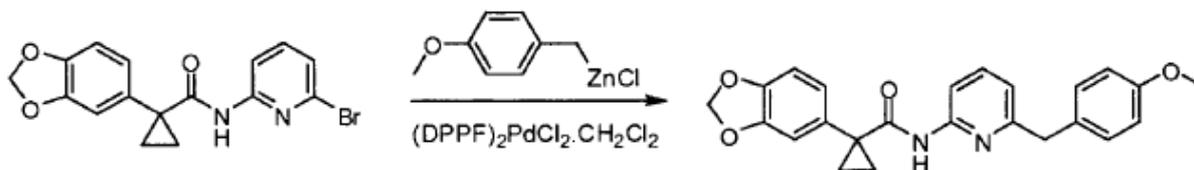
- 20 La 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(6-((2-metoxifenil)(metil)amino)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida se sintetizó usando el procedimiento de la 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(6-(2-metoxifenilamino)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida haciendo reaccionar 2-metoxi-N-metilanilina con 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(6-bromopiridin-2-il)ciclopropanocarboxamida.

25 **Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-benzoilpiridin-2-il)ciclopropanocarboxamida**

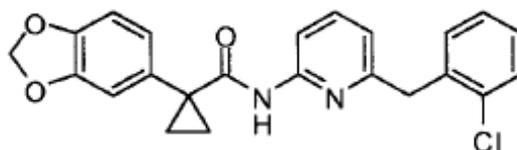


- 30 A una solución de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-cianopiridin-2-il)ciclopropanocarboxamida (61,00 mg, 0,20 mmol) in THF (1 ml) a 0 °C, se añadió lentamente una solución de bromuro de fenilmagnesio (133 μl, 3 M, 0,40 mmol) en éter, y se dejó calentar la mezcla de reacción hasta temperatura ambiente y se agitó a temperatura ambiente durante ochenta horas. Se añadió ácido clorhídrico (1 M) se añadió al material de reacción. Se extrajo el producto con acetato de etilo. Se secó la capa orgánica sobre Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a presión reducida. Se disolvió el producto bruto en DMSO (1 ml), se filtró y se purificó por HPLC de fase inversa preparativa, produciendo 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-benzoilpiridin-2-il)ciclopropanocarboxamida en forma de una sal TFA (18 mg, 0,035 mmol, 18 %). IEN-EM *m/z* calc.: 386,1; encontrado: 387,1 (M + 1)⁺; tiempo de retención: 3,45 minutos.

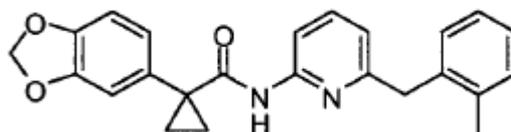
35

Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(6-(4-metoxibencil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida

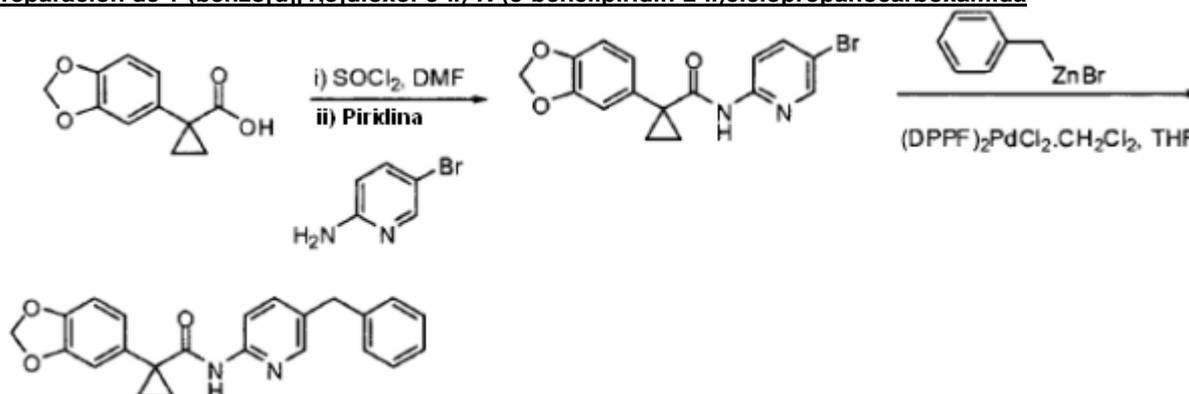
5 A $(\text{DPPF})_2\text{PdCl}_2\cdot\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (17 mg, 0,02 mmol), se añadió una solución de cloruro de (4-metoxibencil)cinc (II) (1,60 ml, 0,5 M, 0,80 mmol) en THF en atmósfera de nitrógeno, y se agitó a temperatura ambiente durante cinco minutos. A esto, se añadió lentamente una solución de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(6-bromopiridin-2-il)ciclopropanocarboxamida (72 mg, 0,20 mmol) en THF (800 μl) en atmósfera de nitrógeno. Se calentó la reacción hasta 150 $^\circ\text{C}$ en un reactor de microondas durante 10 minutos. El material resultante se enfrió hasta la temperatura ambiente. Se añadieron Na_2EDTA y de NH_4Cl en solución acuosa saturada al material de reacción y se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se extrajo el producto usando diclorometano. Se secó la capa orgánica sobre Na_2SO_4 anhidro y se evaporó a presión reducida. Se disolvió el producto bruto en DMSO (1 ml), se filtró y se purificó por HPLC de fase inversa preparativa, produciendo 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(6-(4-metoxibencil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida como una sal de TFA (27 mg, 0,052 mmol, 26 %). IEN-EM m/z calc.: 402,2; encontrado: 403,0 ($M + 1$)⁺, tiempo de retención: 3,24 minutos.

Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(6-(2-clorobencil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida

20 La 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(6-(2-clorobencil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida se sintetizó usando el procedimiento de la 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(6-(4-metoxibencil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida, haciendo reaccionar cloruro de (2-clorobencil)cinc (II) con 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(6-bromopiridin-2-il)ciclopropanocarboxamida.

Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(6-(2-metilbencil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida

25 La 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(6-(2-metilbencil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida (VRT-810361) se sintetizó usando el procedimiento de la 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(6-(4-metoxibencil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida, haciendo reaccionar cloruro de (2-metilbencil)cinc (II) con 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(6-bromopiridin-2-il)ciclopropanocarboxamida.

Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-bencilpiridin-2-il)ciclopropanocarboxamida

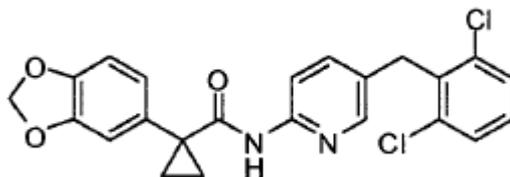
30

Etap a: 1-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-bromopiridin-2-il)ciclopropanocarboxamida

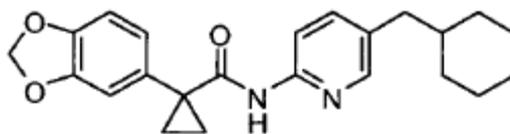
A ácido 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarboxílico (9,50 g, 46,00 mmol), se añadieron cloruro de tionilo (10,00 ml, 138,00 mmol) y DMF (4 gotas), y la mezcla de reacción se agitó y se calentó a 60 °C durante treinta minutos. Se evaporó el exceso de cloruro de tionilo a presión reducida. Se disolvió una porción del cloruro de ácido (14,4 mmol) en piridina (10 ml) y se añadió lentamente 5-bromopiridin-2-amina (14,4 mmol) en piridina (10 ml). Se agitó la mezcla de reacción a 110 °C durante una hora y treinta minutos. Se evaporó la piridina a presión reducida. Se disolvió la mezcla resultante en diclorometano (100 ml) y se lavó con NaOH 1 N (3 x 25 ml). Se secó la capa orgánica sobre Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a presión reducida. El producto bruto se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice, produciendo 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-bromopiridin-2-il)ciclopropanocarboxamida (4,20 g, 11,7 mmol, 81 %).

Etap a: 1-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-bencilpiridin-2-il)ciclopropanocarboxamida

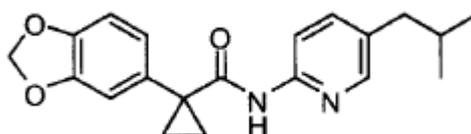
Se agitó una solución de bromuro de bencil-cinc (II) (1,60 ml, 0,5 M, 0,8 mmol) en THF y (dppf)₂PdCl₂•CH₂Cl₂ (17 mg, 0,02 mmol) a temperatura ambiente durante 20 minutos en atmósfera de nitrógeno. A esto, se añadió una solución de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-bromopiridin-2-il)ciclopropanocarboxamida (72 mg, 0,20 mmol) in THF (800 µl) y la mezcla de reacción se calentó hasta 150 °C en un reactor de microondas durante 10 minutos. Se enfrió el material resultante hasta la temperatura ambiente. Se añadieron Na₂EDTA y de NH₄Cl en solución acuosa saturada al material de reacción y se agitó a temperatura ambiente durante 20 minutos. Se extrajo el producto usando diclorometano. Se secó la capa orgánica sobre Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a presión reducida. El producto bruto se disolvió en DMSO (1 ml), se filtró y se purificó por HPLC de fase inversa preparativa, produciendo 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-bencilpiridin-2-il)ciclopropanocarboxamida en forma de una sal TFA (15 mg, 0,031 mmol, 15 %). IEN-EM *m/z* calc.: 372,1; encontrado: 373,1 (M + 1)⁺; tiempo de retención: 7,14 minutos.

Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-(2,6-diclorobencil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida

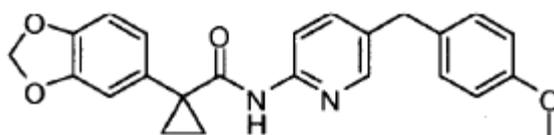
La 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-(2,6-diclorobencil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida se sintetizó usando el procedimiento de la 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-bencilpiridin-2-il)ciclopropanocarboxamida, haciendo reaccionar 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-bromopiridin-2-il)ciclopropanocarboxamida con cloruro de (2,6-diclorobencil)cinc (II).

Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-(ciclohexilmetil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida

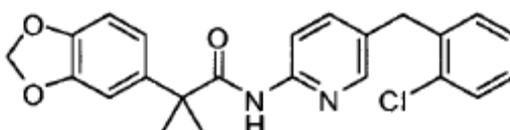
La 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-(ciclohexilmetil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida se sintetizó usando el procedimiento de la 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-bencilpiridin-2-il)ciclopropanocarboxamida, haciendo reaccionar 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-bromopiridin-2-il)ciclopropanocarboxamida con bromuro de (ciclohexilmetil)cinc (II).

Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-isobutilpiridin-2-il)ciclopropanocarboxamida

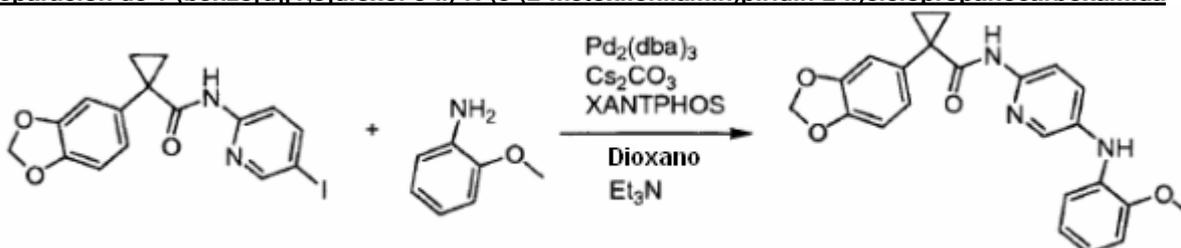
La 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-isobutilpiridin-2-il)ciclopropanocarboxamida se sintetizó usando el procedimiento de la 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-bencilpiridin-2-il)ciclopropanocarboxamida, haciendo reaccionar 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-bromopiridin-2-il)ciclopropanocarboxamida con bromuro de isobutil-cinc (II).

Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-(4-metoxibencil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida

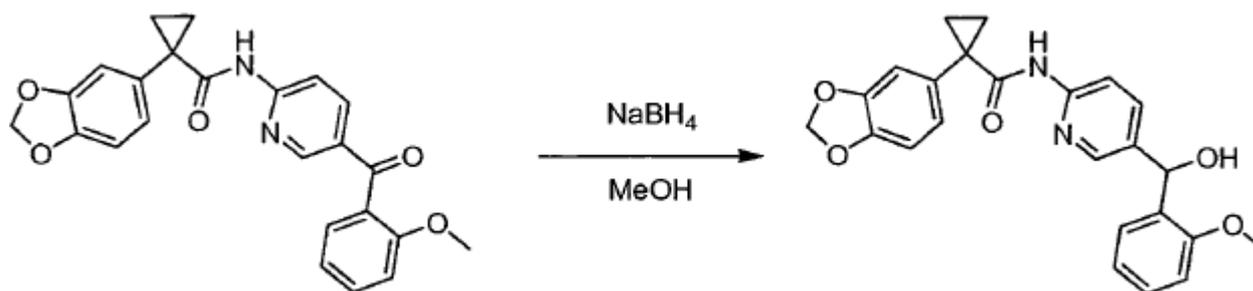
La 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-(4-metoxibencil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida se sintetizó usando el procedimiento de la 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-bencilpiridin-2-il)ciclopropanocarboxamida, haciendo reaccionar
5 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-bromopiridin-2-il)ciclopropanocarboxamida con cloruro de (4-metoxibencil)cinc (II).

Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-(2-clorobencil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida

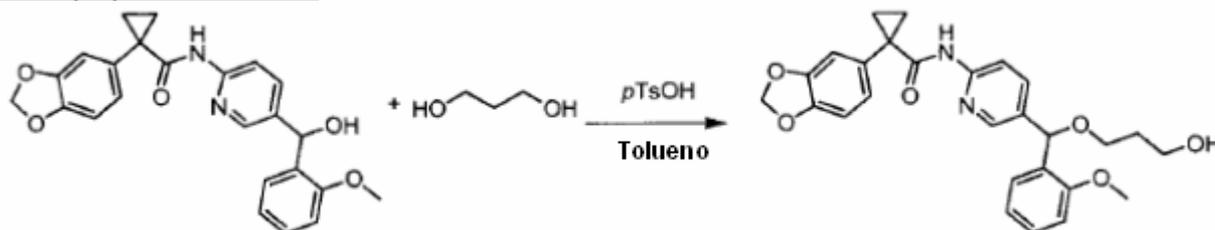
La 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-(2-clorobencil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida se sintetizó usando el procedimiento de la 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-bencilpiridin-2-il)ciclopropanocarboxamida, haciendo reaccionar
10 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-bromopiridin-2-il)ciclopropanocarboxamida con cloruro de (2-clorobencil)cinc (II).

Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-(2-metoxifenilamin)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida

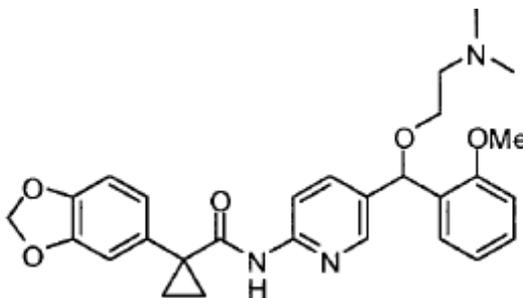
15 Se suspendió 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-yodopiridin-2-il)ciclopropanocarboxamida (816 mg, 0,200 mmol) en 1,4-dioxano (0,4 ml) y trietilamina (0,2 ml) que contenía carbonato de cesio (91,2 mg, 0,0280 mmol), tris(dibencilidenacetona)dipaladio (0) (1,8 mg, 0,0020 mmol), 2-metoxianilina (0,027 ml, 0,24 mmol) y (9,9-dimetil-9H-xanteno-4,5-diil)bis(difenilfosfina) (XANTPHOS, 2,3 mg, 0,0040 mmol). Se calentó la mezcla de reacción hasta 100 °C durante 15 horas. A continuación, se filtró el producto bruto, se evaporó a sequedad, se disolvió en *N,N*-
20 dimetilformamida (1 ml) y se purificó por cromatografía líquida preparativa de fase inversa utilizando un gradiente de acetonitrilo al 0-99 % en agua que contenía ácido trifluoroacético al 0,05 %, produciendo el producto puro (2,6 mg, 0,0049, 2,4 %). IEN-EM *m/z* calc.: 403,2; encontrado: 404,5 (*M* + 1)⁺. Tiempo de retención: 2,73 minutos.

Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-(hidroxi(2-metoxifenil)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida

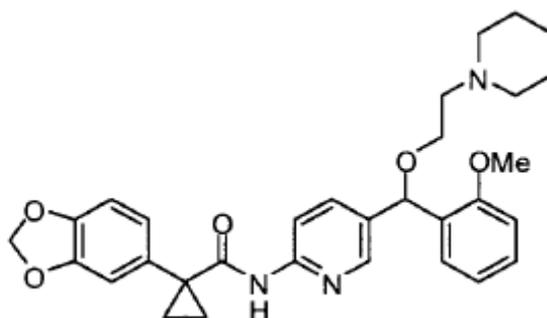
Se suspendió 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-(2-metoxibenzoil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida (0,50 g, 1,2 mmol) en 25 ml de metanol. Se añadió borohidruro de sodio (0,454 g, 12,0 mmol) en pequeñas porciones. Tras agitar durante una hora, se evaporó la mezcla de reacción a sequedad y se purificó sobre 40 g de gel de sílice
30 utilizando un gradiente de acetato de etilo al 15-70 % en hexanos, dando el producto puro como un sólido blanco (0,2125 g, 0,5078 mmol, 42 %). IEN-EM *m/z* calc.: 418,6; encontrado: 419,3 (*M* + 1)⁺. Tiempo de retención: 2,59 minutos.

Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-((3-hidroxiopropoxi)(2-metoxifenil)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida

5 Se suspendió 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-(hidroxi(2-metoxifenil)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida (41,8 mg, 0,100 mmol) en 2 ml de tolueno que contenía hidrato de ácido 4-metilbencenosulfónico (*p*TsOH, 23,8 mg, 0,125 mmol) y propano-1,3-diol (9,89 mg, 0,130 mmol). A continuación, se calentó la mezcla de reacción hasta 140 °C durante 5 minutos en un reactor de microondas. Después, se filtró el producto bruto, se evaporó a sequedad, se disolvió en *N,N*-dimetilformamida (1 ml) y se purificó por cromatografía líquida preparativa de fase inversa utilizando un gradiente de acetonitrilo al 0-99 % en agua que contenía ácido trifluoroacético al 0,05 %, produciendo el producto puro (26,5 mg, 0,0556 mmol, 55,6 %). IEN-EM *m/z* calc.: 476,5; encontrado: 477,3 (*M* + 1)⁺. Tiempo de retención: 2,71 minutos.

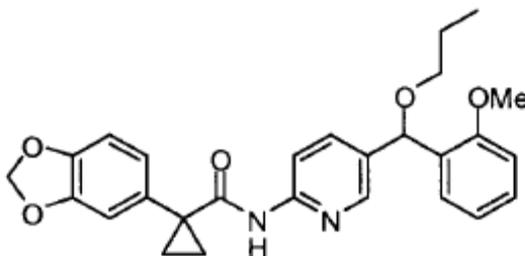
Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-((2-(dimetilamino)etoxi)(2-metoxifenil)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida

15 La 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-(dimetilamino)etoxi)(2-(2(metoxifenil)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida se preparó a partir de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-(hidroxi(2-metoxifenil)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida y 2-(dimetilamino)etanol de una manera análoga a la de la 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-((3-hidroxiopropoxi)(2-metoxifenil)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida.

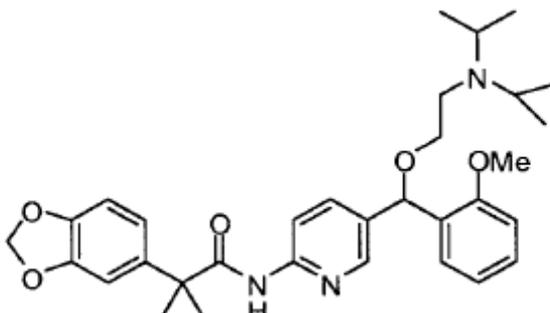
Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-((2-metoxifenil)(2-(piperidin-1-il)etoxi)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida

25 La 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-((2-metoxifenil)(2-(piperidin-1-il)etoxi)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida se preparó a partir de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-(hidroxi(2-metoxifenil)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida y 2-(piperidin-1-il)etanol de una manera análoga a la de la 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-((3-hidroxiopropoxi)(2-metoxifenil)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida.

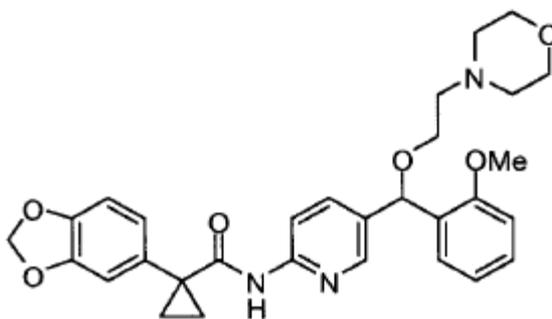
30

Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-((2-metoxifenil)(propoxi)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida

5 La 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-((2-metoxifenil)(propoxi)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida se preparó a partir de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-(hidroxi(2-metoxifenil)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida y propan-1-ol de una manera análoga a la de la 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-((3-hidroxi)propoxi)(2-metoxifenil)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida.

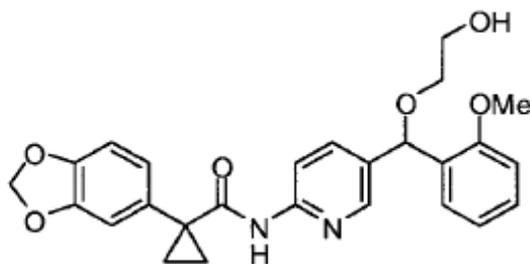
10 Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-((2-(diisopropilamino)etoxi)(2-metoxifenil)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida

15 La 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-((2-(diisopropilamino)etoxi)(2-metoxifenil)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida se preparó a partir de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-(hidroxi(2-metoxifenil)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida y 2-(diisopropilamino)etanol de una manera análoga a la de la 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-((3-hidroxi)propoxi)(2-metoxifenil)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida.

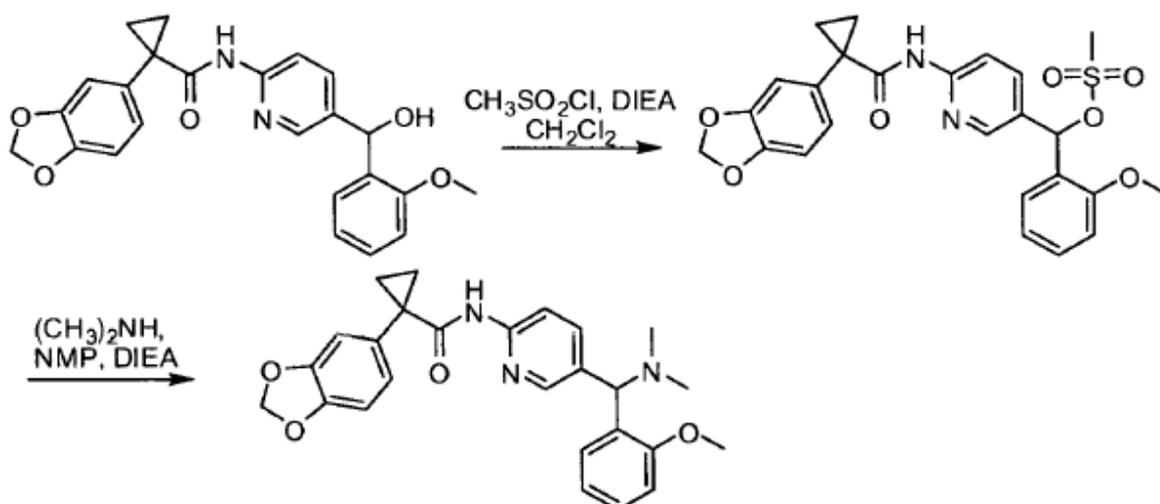
Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-((2-metoxifenil)(2-morfolineto)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida

20 La 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-((2-metoxifenil)(2-morfolineto)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida se preparó a partir de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-(hidroxi(2-metoxifenil)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida y 2-morfolineto)etanol de una manera análoga a la de la 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-((3-hidroxi)propoxi)(2-metoxifenil)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida.

25

Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-((2-hidroxi(2-metoxifenil)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida

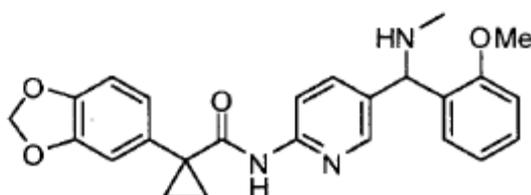
5 La 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-((2-hidroxi(2-metoxifenil)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida se preparó a partir de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-(hidroxi(2-metoxifenil)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida y etano-1,2-diol de una manera análoga a la de la 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-((3-hidroxi-propoxi)(2-metoxifenil)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida.

10 Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-((dimetilamino)(2-metoxifenil)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida**15 Etapa a: Metanosulfonato de (6-(1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarboxamido)piridin-3-il)(2-metoxifenil)metilo**

Se añadió cloruro de metanosulfonilo (56 μ l, 0,72 mmol) lentamente a la mezcla de {5-[hidroxi-(2-metoxi-fenil)-metil]-piridin-2-il}-amida de ácido 1-benzo[1,3]dioxol-5-il-ciclopropanocarboxílico (50 mg, 0,12 mmol) y DIEA (24 μ l, 0,14 mmol) en diclorometano (2 ml) a 0 $^{\circ}$ C. Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 3 h. Se evaporaron los disolventes y el residuo se usó para la siguiente etapa sin ninguna purificación adicional.

20 Etapa b: 1-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-((dimetilamino)(2-metoxifenil)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida

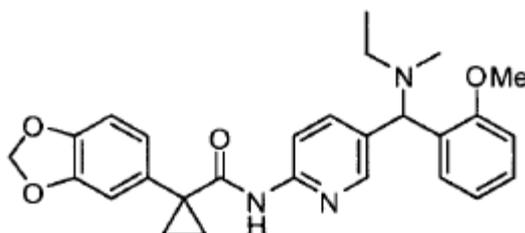
25 Se disolvió metanosulfonato de (6-(1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarboxamido)piridin-3-il)(2-metoxifenil)metilo (0,12 mmol) en NMP (2 ml) después de la adición de solución 2 M de dimetilamina en THF (600 μ l, 0,12 mmol) y DIEA (21 μ l, 0,12 mmol). Se mantuvo la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 16 h. Se sometió la mezcla resultante a purificación por HPLC, proporcionando la sal trifluoroacética del material diana (55 mg, 82 %) en forma de un sólido incoloro. RMN de 1 H (DMSO): δ 8,43 (s, 1H), δ 8,40 (d, J = 2 Hz, 1H), δ 8,06 (d, J = 8,7 Hz, 1H), δ 7,96 (dd, J = 2 Hz, J = 8,7 Hz, 1H), δ 7,56 (d ancho, J = 6,5 Hz, 1H), δ 7,39 (t ancho, J = 6,5 Hz, 1H), δ 7,5-7,11 (m, 3H), δ 6,96 (s, 2H), δ 6,05 (s, 2H), δ 5,68 (m ancho, 1H), δ 3,85 (s, 3H), δ 2,75 (s, 6H), δ 1,42-1,45 (m, 2H), δ 1,13-1,16 (m, 2H).

Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-((2-metoxifenil)(metilamino)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida

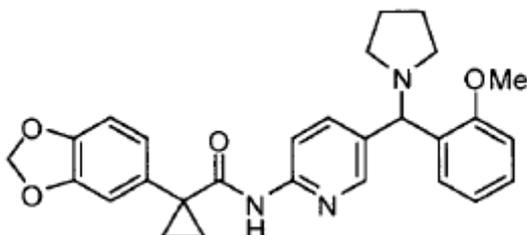
- 5 La 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-((2-metoxifenil)(metilamino)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida se preparó a partir de metanosulfonato de (6-(1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarboxamido)piridin-3-il)(2-metoxifenil)metilo y metilamina de una manera análoga a la de la 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-((dimetilamino)(2-metoxifenil)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida.

Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-((etil(metil)amino)(2-metoxifenil)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida

10



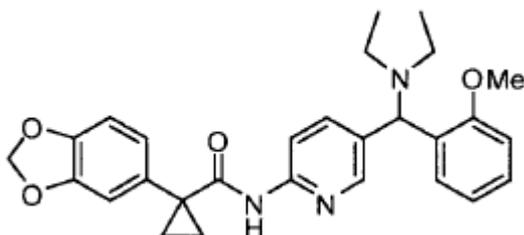
- 15 La 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-((etil(metil)amino)(2-metoxifenil)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida se preparó a partir de metanosulfonato de (6-(1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarboxamido)piridin-3-il)(2-metoxifenil)metilo y N-metiletanamina de una manera análoga a la de la 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-((dimetilamino)(2-metoxifenil)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida.

Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-((2-metoxifenil)(pirrolidin-1-il)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida

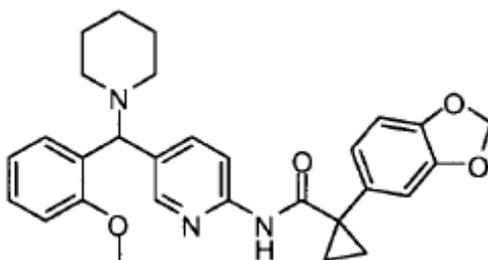
- 20 La 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-((2-metoxifenil)(pirrolidin-1-il)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida se preparó a partir de metanosulfonato de (6-(1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarboxamido)piridin-3-il)(2-metoxifenil)metilo y pirrolidina de una manera análoga a la de la 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-((dimetilamino)(2-metoxifenil)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida.

Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-((dimetilamino)(2-metoxifenil)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida

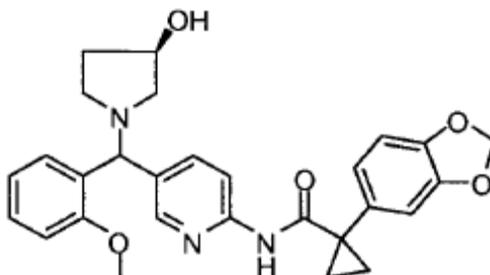
25



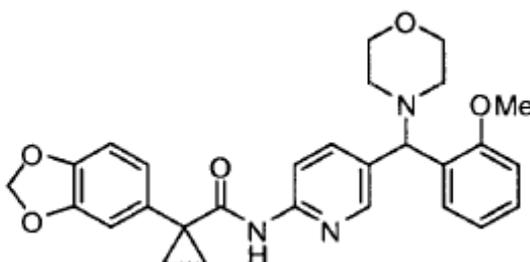
- 30 La 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-((dielilamino)(2-metoxifenil)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida se preparó a partir de metanosulfonato de (6-(1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarboxamido)piridin-3-il)(2-metoxifenil)metilo y dietilamina en una manera análoga a la de la 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-((dimetilamino)(2-metoxifenil)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida.

Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-((2-metoxifenil)(piperidin-1-il)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida

5 La 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-((2-metoxifenil)(piperidin-1-il)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida se preparó a partir de metanosulfonato de (6-(1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarboxamido)piridin-3-il)(2-metoxifenil)metilo y piperidina de una manera análoga a la de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-((dimetilamino)(2-metoxifenil)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida.

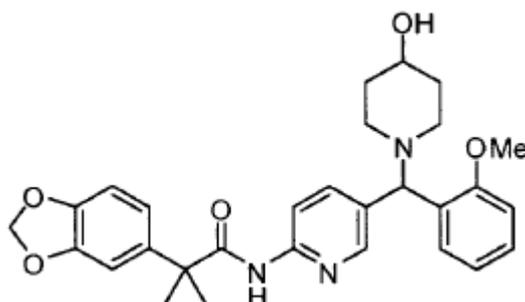
10 Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-(((R)-3-hidroxi-pirrolidin-1-il)(2-metoxifenil)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida

15 La 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-(((R)-3-hidroxi-pirrolidin-1-il)(2-metoxifenil)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida se preparó a partir de metanosulfonato de (6-(1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarboxamido)piridin-3-il)(2-metoxifenil)metilo y (R)-3-hidroxi-pirrolidina de una manera análoga a la de la 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-((dimetilamino)(2-metoxifenil)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida.

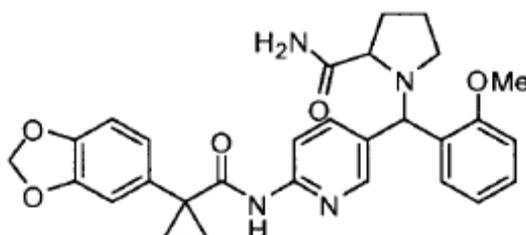
Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-((2-metoxifenil)(morfolin)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida

20 La 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-((2-metoxifenil)(morfolin)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida se preparó a partir de metanosulfonato de (6-(1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarboxamido)piridin-3-il)(2-metoxifenil)metilo y morfolina de una manera análoga a la de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-((dimetilamino)(2-metoxifenil)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida.

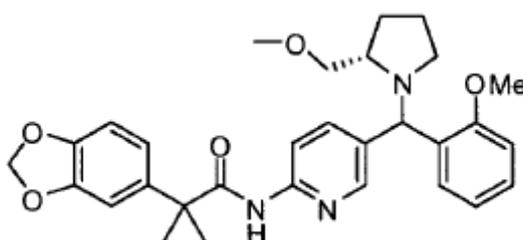
25

Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-((4-hidroxipiperidin-1-il)(2-metoxifenil)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida

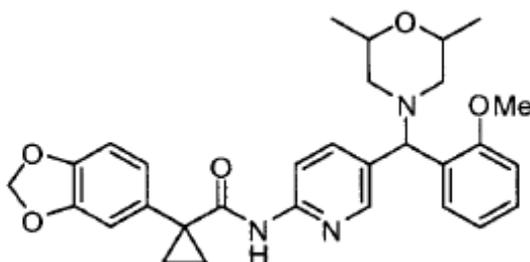
5 La 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-((4-hidroxipiperidin-1-il)(2-metoxifenil)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida se preparó a partir de metanosulfonato de (6-(1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarboxamido)piridin-3-il)(2-metoxifenil)metilo y 4-hidroxipiperidina de una manera análoga a la de la 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-((dimetilamino)(2-metoxifenil)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida.

10 Preparación de 1-((6-(1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-ciclopropanocarboxamido)piridin-3-il)(2-metoxifenil)metil)pirrolidin-2-carboxamida

15 La 1-((6-(1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-ciclopropanocarboxamido)piridin-3-il)(2-metoxifenil)metil)pirrolidin-2-carboxamida se preparó a partir de metanosulfonato de (6-(1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarboxamido)piridin-3-il)(2-metoxifenil)metilo y pirrolidin-2-carboxamida de una manera análoga a la de la 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-((dimetilamino)(2-metoxifenil)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida.

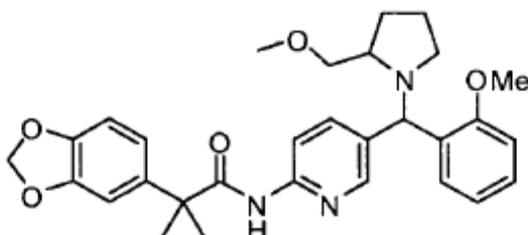
Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-(((S)-2-(metoximetil)pirrolidin-1-il)(2-metoxifenil)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida

20 La 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-(((S)-2-(metoximetil)pirrolidin-1-il)(2-metoxifenil)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida se preparó a partir de metanosulfonato de (6-(1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarboxamido)piridin-3-il)(2-metoxifenil)metilo y piperidina de una manera análoga a la de la 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-((dimetilamino)(2-metoxifenil)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida.

25 Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(5-((2,6-dimetilmorfolin)2-metoxifenil)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida

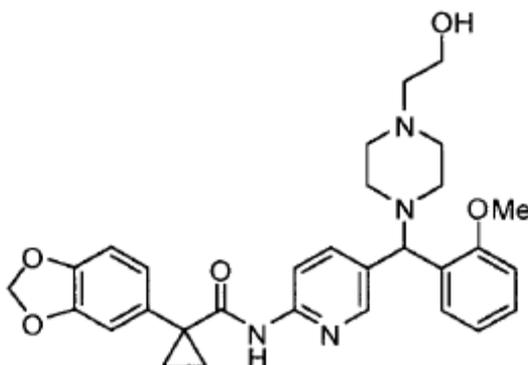
La 1-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-il)-*N*-(5-((2,6-dimetilmorfolino)2-metoxifenil)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida se preparó a partir de metanosulfonato de (6-(1-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarboxamido)piridin-3-il)(2-metoxifenil)metilo y 2,6-dimetilmorfolina en una manera análoga a la de la 1-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-il)-*N*-(5-((dimetilamino)(2-metoxifenil)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida.

5 **Preparación de 1-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-il)-*N*-(5-((2-(metoximetil)pirrolidin-1-il)(2-metoxifenil)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida**



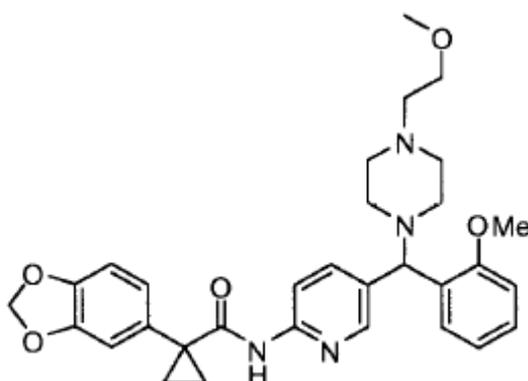
10 La 1-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-il)-*N*-(5-((2-(metoximetil)pirrolidin-1-il)(2-metoxifenil)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida se preparó a partir de metanosulfonato de (6-(1-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarboxamido)piridin-3-il)(2-metoxifenil)metilo y 2-(metoximetil)pirrolidina de una manera análoga a la de la 1-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-il)-*N*-(5-((dimetilamino)(2-metoxifenil)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida.

15 **Preparación de 1-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-il)-*N*-(5-((4-(2-hidroxietyl)piperazin-1-il)(2-metoxifenil)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida**



20 La 1-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-il)-*N*-(5-((4-(2-hidroxietyl)piperazin-1-il)(2-metoxifenil)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida se preparó a partir de (metanosulfonato de (6-(1-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarboxamido)piridin-3-il)2-metoxifenil)metilo y 2-(piperazin-1-il)etanol de una manera análoga a la de la 1-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-il)-*N*-(5-((dimetilamino)(2-metoxifenil)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida.

Preparación de 1-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-il)-*N*-(5-((4-(2-metoxietyl)piperazin-1-il)(2-metoxifenil)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida



25 La 1-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-il)-*N*-(5-((4-(2-metoxietyl)piperazin-1-il)(2-metoxifenil)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida se preparó a partir de metanosulfonato de (6-(1-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarboxamido)piridin-3-il)(2-metoxifenil)metilo y 1-(2-metoxietyl)piperazina de una manera análoga a la de la 1-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-il)-*N*-(5-((dimetilamino)(2-metoxifenil)metil)piridin-2-il)ciclopropanocarboxamida.

A continuación, se exponen los datos de caracterización para el compuesto de la presente invención y los compuestos de fórmula I de ejemplo preparados de acuerdo con los ejemplos anteriores.

Tabla 5

| Comp. N° | CL-EM M+1 | CL/TR min. |
|----------|-----------|------------|
| 1 | 403,1 | 3,48 |
| 2 | 311,1 | 2,26 |
| 3 | 403,1 | 3,24 |
| 4 | 443,5 | 3,4 |
| 5 | 387,1 | 3,44 |
| 6 | 326,3 | 2,33 |
| 7 | 474,3 | 2,94 |
| 8 | 389,3 | 3,2 |
| 9 | 472,3 | 2,88 |
| 10 | 419,3 | 2,91 |
| 11 | 532,3 | 2,39 |
| 12 | 433,3 | 3,3 |
| 13 | 389,1 | 2,89 |
| 14 | 387,1 | 3,45 |
| 15 | 390,3 | 2,93 |
| 16 | 379,3 | 8,16 |
| 17 | 351,1 | 3,5 |
| 18 | 546,5 | 2,59 |
| 19 | 297,1 | 2,67 |
| 20 | 446,3 | 2,8 |
| 21 | 297,3 | 2,09 |
| 22 | 545,5 | 2,74 |
| 23 | 516,3 | 2,96 |
| 24 | 441,3 | 8,81 |
| 25 | 269,1 | 2,82 |
| 26 | 311,3 | 2,4 |
| 27 | 417,3 | 3,5 |
| 28 | 403,5 | 3,57 |
| 29 | 339,3 | 6,6 |
| 30 | 457,5 | 3,79 |
| 31 | 373,3 | 3,33 |
| 32 | 486,3 | 2,94 |
| 33 | 461,5 | 3,6 |
| 34 | 389,1 | 2,97 |
| 35 | 403,3 | 3,15 |

ES 2 442 945 T3

| | | |
|----|-------|------|
| 36 | 516,3 | 2,97 |
| 37 | 419,3 | 3,69 |
| 38 | 283,1 | 2,68 |
| 39 | 531,5 | 2,61 |
| 40 | 333,1 | 1,48 |
| 41 | 345,1 | 3,07 |
| 42 | 297,3 | 2,18 |
| 43 | 325,3 | 2,13 |
| 44 | 419,3 | 2,57 |
| 45 | 515,5 | 2,75 |
| 46 | 393,1 | 3,3 |
| 47 | 301,3 | 3,05 |
| 48 | 389,1 | 2,55 |
| 49 | 488,3 | 2,8 |
| 50 | 453 | 1,63 |
| 51 | 516,3 | 3,01 |
| 52 | 404,5 | 2,73 |
| 53 | 432,3 | 2,74 |
| 54 | 283,1 | 2,61 |
| 55 | 488,3 | 2,76 |
| 56 | 339,2 | 3,19 |
| 57 | 463,5 | 2,66 |
| 58 | 502,3 | 2,75 |
| 59 | 407,5 | 3,39 |
| 60 | 403,5 | 3,11 |
| 61 | 267,1 | 1,6 |
| 62 | 460,3 | 2,86 |
| 63 | 373,1 | 7,14 |
| 64 | 404,5 | 3,01 |
| 65 | 308,1 | 3,07 |
| 66 | 477,3 | 2,71 |
| 67 | 379,1 | 3,56 |
| 68 | 453,1 | 3,69 |
| 69 | 283,1 | 2,13 |
| 70 | 387,3 | 3,7 |
| 71 | 530,5 | 2,53 |
| 72 | 297,3 | 2,19 |
| 73 | 438,3 | 1,83 |
| 74 | 418,3 | 2,87 |

| | | |
|----|-------|------|
| 75 | 297,1 | 2,48 |
| 76 | 407,5 | 3,69 |
| 77 | 373,1 | 3,5 |
| 78 | 407 | 3,6 |

Ensayos para la detección y medición de las propiedades de corrección del $\Delta F508$ -CFTR de los compuestos

Métodos ópticos de potencial de membrana para ensayar las propiedades de modulación del $\Delta F508$ -CFTR de los compuestos

El ensayo utiliza colorantes fluorescentes sensibles al voltaje para medir los cambios en el potencial de membrana usando un lector de placas fluorescentes (por ejemplo, FLIPR III, Molecular Devices, Inc.) como lectura del aumento producido en el $\Delta F508$ -CFTR in células NIH 3T3. La fuerza impulsora de la respuesta es la creación de un gradiente de iones cloruro en combinación con la activación del canal mediante una sola etapa de adición de líquido tras haber tratado previamente las células con compuestos y, posteriormente, suministrarles un colorante sensible al voltaje.

Identificación de compuestos de corrección

Para identificar moléculas pequeñas que corrijan el defecto de circulación asociado con el $\Delta F508$ -CFTR, se desarrolló un formato de ensayo HTS de una sola adición. Se incuban las placas de ensayo que contienen las células durante ~2-4 horas en una incubadora de cultivos tisulares a 37 °C, CO₂ al 5 %, humedad del 90 %. Entonces, las células están listas para la exposición a los compuestos tras adherirse al fondo de las placas de ensayo.

Se incubaron las células en medio libre de suero durante 16-24 h en una incubadora de tejido tisular a 37 °C, CO₂ al 5 %, humedad del 90 % en presencia o ausencia (control negativo) del compuesto de ensayo. Posteriormente, se aclararon las células 3 veces con solución de Krebs Ringers y se cargaron con un colorante de redistribución sensible al voltaje. Para activar el $\Delta F508$ -CFTR, se añadieron forskolina 10 μ M y el potenciador de CFTR, genisteína (20 μ M), a cada pocillo junto con medio sin Cl⁻. La adición de medio sin Cl⁻ promovió el eflujo de sin Cl⁻ en respuesta a la activación del $\Delta F508$ -CFTR, y la despolarización de la membrana resultante se controló de forma óptica usando colorantes sensibles al voltaje.

Identificación de compuestos potenciadores

Para identificar los potenciadores del $\Delta F508$ -CFTR, se desarrolló un formato de ensayo HTS de doble adición. Este ensayo HTS utiliza colorantes fluorescentes sensibles al voltaje para medir los cambios en el potencial de membrana producidos en el FLIPR III como medida del aumento de la apertura (conductancia) de $\Delta F508$ -CFTR in células NIH 3T3 con $\Delta F508$ -CFTR corregidas en cuanto a la temperatura. La fuerza impulsora de la respuesta es un gradiente de iones Cl⁻ en combinación con la activación del canal con forskolina mediante una sola etapa de adición de líquido usando un lector de placas fluorescentes tal como FLIPR III, tras haber tratado previamente las células con compuestos potenciadores (o control de vehículo de DMSO) y, posteriormente, suministrarles un colorante de redistribución.

Soluciones:

Solución

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

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

Cultivo celular

Se usan fibroblastos de ratón NIH3T3 que expresan de forma estable el $\Delta F508$ -CFTR para las medidas ópticas del potencial de membrana. Las células se mantienen a 37 °C en CO₂ al 5 % y humedad del 90 % en medio de Eagle modificado por Dulbecco complementado con glutamina 2 mM, suero bovino fetal al 10 %, 1 x NEAA, β -ME, 1 x pen/estrep, y HEPES 25 mM en matraces de cultivo de 175 cm². Para todos los ensayos ópticos, las células se sembraron a ~20.000/pocillo en placas recubiertas con matrigel de 384 pocillos y se cultivaron durante 2 horas a 37 °C antes del cultivo a 27 °C durante 24 horas para el ensayo del potenciador. Para los ensayos de corrección, las células se cultivan a 27 °C o a 37 °C con y sin compuestos durante 16-24 horas.

Ensayos electrofisiológicos para ensayar las propiedades de modulación del $\Delta F508$ -CFTR de los compuestos

1. Ensayo de cámara de Ussing

5 Se llevaron a cabo experimentos de cámara de Ussing en células epiteliales de las vías respiratorias polarizadas que expresaban el $\Delta F508$ -CFTR para caracterizar adicionalmente los moduladores del $\Delta F508$ -CFTR identificados en los ensayos ópticos. Se aislaron epitelios de vías aéreas con FQ y sin FQ de tejido bronquial, se cultivaron como se ha descrito previamente (Galiotta, L. J. V., Lantero, S., Gazzolo, A., Sacco, O., Romano, L., Rossi, G. A., y Zegarra-Moran, O. (1998) *In Vitro Cell. Dev. Biol.* 34, 478-481) y se sembraron en filtros Costar® Snapwell® previamente recubiertos con medio acondicionado con NIH3T3. Tras 4 días, se retiró el medio apical y se cultivaron las células en una interfase de aire y líquido durante > 14 días antes de su uso. Esto produjo una monofase de células cilíndricas completamente diferenciadas que eran ciliadas, rasgo que es característico de los epitelios de las vías respiratorias. Se aislaron HBE sin FQ de no fumadores que no tenían enfermedad pulmonar alguna conocida. Se aislaron HBE con FQ de pacientes homocigóticos para $\Delta F508$ -CFTR.

15 Las HBE cultivadas en separadores de cultivo celular Costar® Snapwell® se montaron en una cámara de Ussing (Physiologic Instruments, Inc., San Diego, CA), y se midieron la resistencia transepitelial y la corriente de cortocircuito en presencia de un gradiente de Cl^- de basolateral a apical (I_{SC}) usando un sistema de fijación de voltaje (Departamento de Bioingeniería, Universidad de Iowa, IA). En síntesis, se examinaron las HBE en condiciones de registro de fijación de voltaje ($V_{hold} = 0$ mV) a 37 °C. La solución basolateral contenía (en mM) NaCl 145, K_2HPO_4 0,83, KH_2PO_4 3,3, $MgCl_2$ 1,2, $CaCl_2$ 1,2, Glucosa 10, HEPES 10 (pH ajustado hasta 7,35 con NaOH) y la solución apical contenía (en mM) Gluconato de Na 145, $MgCl_2$ 1,2, $CaCl_2$ 1,2, glucosa 10, HEPES 10 (pH ajustado hasta 7,35 con NaOH).

25 Identificación de compuestos de corrección

El protocolo típico utilizaba un gradiente de concentración de Cl^- de membrana basolateral a apical. Para establecer este gradiente, se usó Ringer normal en la membrana basolateral, mientras que el NaCl apical se sustituyó con gluconato sódico equimolar (ajustado a pH 7, 4 con NaOH), dando un gran gradiente de concentración de Cl^- a través del epitelio. Todos los experimentos se llevaron a cabo con monofases intactas. Para activar totalmente los $\Delta F508$ -CFTR, se añadieron en el lado apical forskolina (10 μM), el inhibidor de PDE, IBMX (100 μM) y potenciador de CFTR, genisteína (50 μM).

35 Como se observa en otros tipos celulares, la incubación a baja temperaturas de las células FRT y las células epiteliales bronquiales humanas aisladas de pacientes enfermos de FQ (HBE con FQ) que expresan el $\Delta F508$ -CFTR aumenta la densidad funcional de CFTR en la membrana plasmática. Para determinar la actividad de los compuestos de corrección, se incubaron las células con compuesto de ensayo durante 24-48 horas a 37 °C y posteriormente se lavaron 3 veces antes del registro. Se normalizó la I_{SC} mediada por cAMP y por genisteína en las células tratadas con el compuesto con respecto a los controles a 37 °C y se expresó como un porcentaje de la actividad de CFTR en HBE de tipo silvestre. La incubación previa de las células con el compuesto de corrección aumentó de forma significativa la I_{SC} mediada por cAMP y por genisteína en comparación con los controles a 37 °C.

Identificación de compuestos potenciadores

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

2. Registros de pinzamiento zonal

55 Se controló la corriente de Cl^- total en las células $\Delta F508$ -NIH3T3 usando la configuración de registro de parche perforado como se ha descrito previamente (Rae, J., Cooper, K., Gates, P., y Watsky, M. (1991) *J. Neurosci. Methods* 37, 15-26). Se realizaron registros de fijación de voltaje a 22 °C usando un amplificador de pinzamiento zonal Axopatch 200B (Axon Instruments Inc., Foster City, CA). La solución de la pipeta contenía (en mM) *N*-metil-D-glucamina (NMDG)-Cl 150, $MgCl_2$ 2, $CaCl_2$ 2, EGTA 10, HEPES 10 y 240 $\mu g/ml$ de anfotericina-B (pH ajustado a 7,35 con HCl). El medio extracelular contenía (en mM) NMDG-Cl 150, $MgCl_2$ 2, $CaCl_2$ 2, HEPES 10 (pH ajustado a 7,35 con HCl). La generación de impulsos, y la adquisición y el análisis de datos se realizaron usando un PC dotado de un interfaz A/D Digidata 1320 en combinación con Calmpex 8 (Axon Instruments Inc.). Para activar $\Delta F508$ -CFTR, se añadieron forskolina 20 μM y genisteína 20 μM al baño y se controló la relación de corriente-voltaje cada 30 segundos.

65 Identificación de los compuestos de corrección

Para determinar la actividad de los compuestos de corrección para aumentar la densidad del $\Delta F508$ -CFTR funcional en la membrana plasmática, se usaron las técnicas de registro de parche perforado que se han descrito anteriormente para medir la densidad de corriente tras 24 horas de tratamiento con los compuestos de corrección. Para activar totalmente el $\Delta F508$ -CFTR, se añadieron a las células forscolina $10 \mu\text{M}$ y genisteína $20 \mu\text{M}$. En estas condiciones de registro, la densidad de la corriente después de 24 horas de incubación a 27°C resultó ser superior a la observada después de 24 horas de incubación a 37°C . Estos resultados coinciden con los efectos conocidos de la incubación a baja temperatura en la densidad del $\Delta F508$ -CFTR en la membrana plasmática. Para determinar los efectos de los compuestos de corrección en la densidad de corriente del CFTR, se incubaron las células con $10 \mu\text{M}$ del compuesto de ensayo durante 24 horas a 37°C , y se comparó la densidad de corriente con los controles a 27°C y a 37°C (% de actividad). Antes del registro, las células se lavaron 3 veces con medio de registro extracelular para retirar cualquier compuesto de ensayo restante. La incubación previa con $10 \mu\text{M}$ de los compuestos de corrección aumentó de forma significativa la corriente dependiente de cAMP y de genisteína en comparación con los controles a 37°C .

15 Identificación de los compuestos potenciadores

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

25 Cultivo Celular

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

35 Registros de un solo canal

Se observó la actividad de apertura de CFTR de tipo silvestre y $\Delta F508$ -CFTR corregido con la temperatura expresados en las células NIH3T3 usando un parche de membrana extirpado desde dentro hacia fuera según lo descrito previamente (Dalemans, W., Barbry, P., Champigny, G., Jallat, S., Dott, K., Dreyer, D., Crystal, R. G., Pavirani, A., Lecocq, J-P., Lazdunski, M. (1991) *Nature* 354, 526-528) con un amplificador de pinzamiento zonal Axopatch 200B (Axon Instruments Inc.). La pipeta contenía (en mM) NMDG 150, ácido aspártico 150, CaCl_2 5, MgCl_2 2 y HEPES 10 (pH ajustado a 7,35 con base de Tris). El baño contenía en (mM): NMDG-Cl 150, MgCl_2 2, EGTA 5, TES 10 y base de Tris 14 (pH ajustado a 7,35 con HCl). Tras la escisión, se activaron tanto $\Delta F508$ -CFTR como el tipo silvestre mediante la adición de Mg-ATP 1 mM, 75 nM de la subunidad catalítica de la proteína quinasa dependiente de cAMP (PKA; Promega Corp. Madison, WI) y NaF 10 mM para inhibir fosfatasa de proteínas, lo que evitó el deterioro de la corriente. El potencial de la pipeta se mantuvo a 80 mV. Se analizó la actividad del canal desde parches de membrana que contenían ≤ 2 canales activos. El número máximo de aperturas simultáneas determinó el número de canales activos en el transcurso de un experimento. Para determinar la amplitud de la corriente de un solo canal, los datos registrados a partir de 120 segundos de la actividad del $\Delta F508$ -CFTR se filtraron "fuera de línea" a 100 Hz y después se usaron para construir histogramas de amplitud en todos los puntos que se ajustaron con funciones multigaussianas usando el programa informático de Análisis de Bio-Patch (Bio-Logic Comp. Francia). La corriente microscópica total y la probabilidad abierta (P_o) se determinaron a partir de 120 segundos de actividad del canal. La P_o se determinó usando el programa informático Bio-Patch o a partir de la relación $P_o = I/i(N)$, en la que I = corriente media; i = amplitud de la corriente de un solo canal y N = número de canales activos del parche.

55 Cultivo Celular

Se usan fibroblastos de ratón NIH3T3 que expresan el $\Delta F508$ -CFTR de forma estable para registros de pinzamiento zonal de membrana extirpada. Se mantienen las células a 37°C en CO_2 al 5 % y una humedad del 90 % en medio de Eagle modificado por Dulbecco complementado con glutamina 2 mM, suero bovino fetal al 10 %, 1 x NEAA, β -ME, 1 x pen/estrep y HEPES 25 mM en matraces de cultivo de 175 cm^2 . Para los registros de un solo canal, se sembraron 2.500–5.000 células en portaobjetos de vidrio recubiertos con poli-L-lisina y se cultivaron durante 24-48 horas a 27°C antes de su uso.

65 Los compuestos de la Tabla 1 resultaron presentar actividad de corrección medida en el ensayo descrito

anteriormente.

El compuesto de la invención es útil como modulador de los transportadores de casetes de unión a ATP. Con el uso de los procedimientos descritos anteriormente, se han medido las actividades, es decir las CE₅₀, del compuesto de la presente invención y de los compuestos de fórmula I de ejemplo, y se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6

| Agrupaciones de CI ₅₀ /CE ₅₀ :+++ ≤ 2,0 < ++ ≤ 5,0 < + | | |
|--|---------------------------|--------------------------|
| Agrupaciones del porcentaje de actividad:+ ≤ 25,0 < ++ ≤ 100,0 < +++ | | |
| Comp. Nº | EC ₅₀ agrupada | Eficacia máxima agrupada |
| 1 | + | ++ |
| 2 | + | +++ |
| 3 | +++ | +++ |
| 4 | + | +++ |
| 5 | +++ | +++ |
| 6 | + | ++ |
| 7 | +++ | +++ |
| 8 | ++ | ++ |
| 9 | ++ | +++ |
| 10 | ++ | ++ |
| 11 | ++ | +++ |
| 12 | + | ++ |
| 13 | ++ | ++ |
| 14 | ++ | +++ |
| 15 | ++ | ++ |
| 16 | +++ | +++ |
| 17 | ++ | ++ |
| 18 | +++ | ++ |
| 19 | + | ++ |
| 20 | ++ | +++ |
| 21 | + | +++ |
| 22 | +++ | ++ |
| 23 | +++ | +++ |
| 24 | +++ | +++ |
| 25 | + | ++ |
| 26 | ++ | +++ |
| 27 | ++ | +++ |
| 28 | + | +++ |
| 29 | ++ | +++ |
| 30 | + | ++ |
| 31 | ++ | ++ |

ES 2 442 945 T3

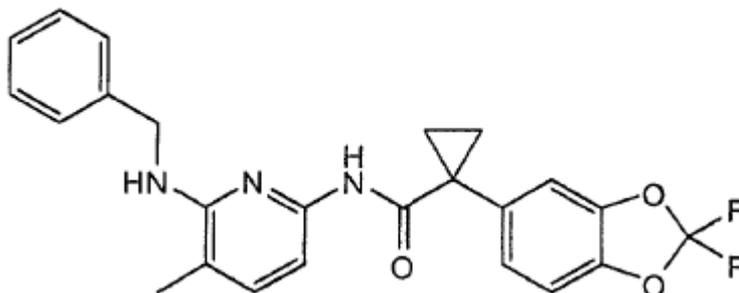
| | | |
|----|-----|-----|
| 32 | +++ | +++ |
| 33 | ++ | +++ |
| 34 | ++ | ++ |
| 35 | +++ | +++ |
| 36 | +++ | +++ |
| 37 | ++ | +++ |
| 38 | + | ++ |
| 39 | +++ | ++ |
| 40 | ++ | +++ |
| 41 | + | ++ |
| 42 | + | +++ |
| 43 | + | ++ |
| 44 | + | +++ |
| 45 | ++ | +++ |
| 46 | ++ | +++ |
| 47 | + | +++ |
| 48 | + | ++ |
| 49 | +++ | +++ |
| 50 | ++ | ++ |
| 51 | +++ | +++ |
| 52 | +++ | +++ |
| 53 | ++ | +++ |
| 54 | + | ++ |
| 55 | ++ | +++ |
| 56 | + | +++ |
| 57 | ++ | +++ |
| 58 | ++ | +++ |
| 59 | +++ | +++ |
| 60 | +++ | +++ |
| 61 | + | ++ |
| 62 | ++ | +++ |
| 63 | +++ | +++ |
| 64 | +++ | ++ |
| 65 | + | ++ |
| 66 | ++ | +++ |
| 67 | ++ | +++ |
| 68 | ++ | +++ |
| 69 | + | +++ |
| 70 | ++ | +++ |

ES 2 442 945 T3

| | | |
|----|-----|-----|
| 71 | +++ | ++ |
| 72 | + | +++ |
| 73 | +++ | +++ |
| 74 | +++ | +++ |
| 75 | + | ++ |
| 76 | + | +++ |
| 77 | + | ++ |
| 78 | +++ | +++ |

REIVINDICACIONES

1. El compuesto:



5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. Una composición farmacéutica que comprende:

- 10 (i) el compuesto de la reivindicación 1; y
(ii) un vehículo farmacéuticamente aceptable.

3. La composición de la reivindicación 2 que comprende además un agente adicional seleccionado del grupo que
15 consiste en un agente mucolítico, broncodilatador, un antibiótico, un agente antiinfectivo, un agente antiinflamatorio, corrector del CFTR y un agente nutricional.

4. Un método *in vitro* de modulación de transportadores ABC en una membrana de una célula, que comprende la
etapa de poner en contacto dicha célula con un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1.

20 5. El método de la reivindicación 4, en el que el transportador ABC es CFTR.

6. El compuesto de la reivindicación 1 o la composición de la reivindicación 2 o 3 para su uso en el tratamiento de
una afección, una enfermedad o un trastorno en un paciente afectado por la actividad del transportador ABC, en el
que dicha afección, enfermedad o trastorno se selecciona de entre fibrosis quística, enfisema hereditario,
25 hemocromatosis hereditaria, deficiencias de la coagulación-fibrinólisis, deficiencia de proteína C, angioedema
hereditario de tipo 1, deficiencias en el procesamiento de lípidos, hipercolesterolemia familiar, quilomiconemia de
tipo 1, abetalipoproteinemia, enfermedades del almacenamiento lisosomal, enfermedad de la célula I/pseudo-
polidistofia de Hurler, mucopolisacaridosis, Sandhof/Tay-Sachs, Crigler-Najjar de tipo II,
30 poliendocrinopatía/hiperinsulinemia, diabetes mellitus, enanismo de Laron, deficiencia de mieloperoxidasa,
hipoparatiroidismo primario, melanoma, glucanosis CDG de tipo 1, enfisema hereditario, hipertiroidismo congénito,
osteogénesis imperfecta, hipofibrinogenemia hereditaria, deficiencia de ACT, diabetes insípida (DI), DI neurofiseal,
DI nefrogénica, síndrome de Charcot-Marie Tooth, enfermedad de Pelizaeus-Merzbacher, enfermedad de Alzheimer,
enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica, parálisis supranuclear progresiva, enfermedad de Pick,
35 Huntington, ataxia espinocerebelosa de tipo I, atrofia muscular espinal y bulbar, atrofia dentatorrubro pálido-louisiana,
distrofia miotónica, encefalopatías espongiiformes, enfermedad hereditaria de Creutzfeldt-Jakob, enfermedad de
Fabry, síndrome de Gerstmann-Straussler-Scheinker, EPOC, enfermedad de sequedad ocular y síndrome de
Sjögren.

40 7. El compuesto o la composición para su uso de la reivindicación 6, en el que el transportador ABC es CFTR.

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

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

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