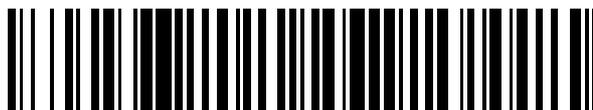


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 532 138**

51 Int. Cl.:

**C07D 487/08** (2006.01)

**A61K 31/4709** (2006.01)

**A61P 11/00** (2006.01)

**A61P 43/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.10.2009 E 09753253 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.12.2014 EP 2358721**

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

30 Prioridad:

**23.10.2008 US 107844 P**

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

**24.03.2015**

73 Titular/es:

**VERTEX PHARMACEUTICALS INCORPORATED  
(100.0%)**

**50 Northern Avenue  
Boston, MA 02210 , US**

72 Inventor/es:

**BINCH, HAYLEY;  
FANNING, LEV, T.D.;  
BOTFIELD, MARTYN;  
GROOTENHUIS, PETER, D.J.;  
VAN GOOR, FREDRICK y  
NUMA, MEHDI, MICHEL DJAMEL**

74 Agente/Representante:

**IZQUIERDO BLANCO, María Alicia**

**Observaciones :**

**Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes**

**ES 2 532 138 T3**

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

## DESCRIPCIÓN

Moduladores del regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística

5 REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS

La presente solicitud reivindica el beneficio de prioridad según 35 U.S.C. § 119 de la solicitud provisional de EE.UU. con número de serie 61/107.844, presentada el 23 de octubre de 2008 y titulada "MODULATORS OF CYSTIC FIBROSIS TRANSMEMBRANE CONDUCTANCE REGULATOR".

10 CAMPO TÉCNICO DE LA INVENCIÓN

La presente invención se refiere a moduladores del 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 compuestos para su uso en métodos para tratar enfermedades utilizando moduladores de CFTR.

15 ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

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

30 Un miembro de la familia de transportadores de casete de unión a ATP comúnmente asociado con la enfermedad es el canal aniónico dependiente de AMPc/ATP, CFTR. CFTR se expresa en diversos tipos de células, incluidas células de epitelios de absorción y secreción, donde regula el flujo de aniones través de la membrana, así como la actividad de otros canales de iones y proteínas. En las células epiteliales, el funcionamiento normal de CFTR es fundamental para el mantenimiento del transporte de electrolitos en todo el cuerpo, incluido el tejido respiratorio y digestivo. CFTR está compuesto por 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 domino regulador (R) polar con múltiples sitios de fosforilación que regulan la actividad del canal y el tráfico celular.

35 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 provoca mutaciones en CFTR que dan lugar a la fibrosis quística ("FQ"), la enfermedad genética fatal más común en seres humanos. La fibrosis quística afecta a aproximadamente uno de cada 2.500 recién nacidos en los Estados Unidos. Dentro de la población general de los Estados Unidos, hasta 10 millones de personas son portadoras de una sola copia del gen defectuoso sin efectos patológicos evidentes. Por el contrario, los individuos con dos copias del gen asociado a la FQ padecen los efectos debilitantes y mortales de la FQ, que incluyen la enfermedad pulmonar crónica.

40 En los pacientes con fibrosis quística, las mutaciones en CFTR expresadas de manera endógena en los epitelios respiratorios conducen a una secreción de aniones apicales reducida que provoca un desequilibrio en el transporte de iones y líquidos. La disminución resultante en el transporte de aniones contribuye a una mayor acumulación de mucosidad en el pulmón y las infecciones microbianas acompañantes que en última instancia causan la muerte en los pacientes con FQ. Además de enfermedades respiratorias, los pacientes con FQ padecen por lo general problemas gastrointestinales e insuficiencia pancreática que, si no se tratan, dan como resultado la muerte. Además, la mayoría de los varones con fibrosis quística son infértiles y la fertilidad disminuye entre las mujeres con fibrosis quística. A diferencia de los graves efectos de 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 debida a la diarrea, lo que tal vez explica la frecuencia relativamente elevada del gen de la FQ en la población.

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

La eliminación del residuo 508 en  $\Delta F508$ -CFTR impide que la proteína naciente se pliegue correctamente. Esto da como resultado la incapacidad de la proteína mutante para salir del RE, y circular hasta la membrana plasmática. Como resultado, el número de canales presentes en la membrana es mucho menor que el observado en células que expresan el CFTR de tipo silvestre. Además del tráfico alterado, la mutación da como resultado la apertura y cierre defectuosos de canales. En conjunto, el número reducido de canales en la membrana y la apertura y cierre defectuosos conducen a un transporte reducido de aniones a través de los epitelios, lo que conduce a un transporte defectuoso de iones y líquidos. (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. (Dolmans *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, R117H-CFTR y G551D-CFTR, otras mutaciones causantes de enfermedad en CFTR que dan como resultado la síntesis, la apertura y cierre de canales y/o el tráfico defectuosos, podrían regularse por aumento o disminución para cambiar la secreción de aniones y modificar la evolución y/o gravedad de la enfermedad.

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

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

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

Las mutaciones en CFTR que se asocian con una disfunción moderada de CFTR también son evidentes en los pacientes con afecciones que comparten determinadas manifestaciones de la enfermedad con la FQ, pero no cumplen con los criterios diagnósticos de la FQ. Éstos incluyen la ausencia bilateral congénita de los conductos deferentes, la pancreatitis crónica idiopática, la bronquitis crónica y la rinosinusitis crónica. Otras enfermedades en las que se cree que el CFTR mutante es un factor de riesgo junto con los genes modificadores o los factores ambientales incluyen la colangitis esclerosante primaria, la aspergilosis broncopulmonar alérgica y el asma.

También se ha demostrado que el humo del tabaco, la hipoxia y factores ambientales que inducen la señalización hipóxica afectan a la función de CFTR y pueden contribuir a determinadas formas de enfermedad respiratoria, tal como la bronquitis crónica. Las enfermedades que puedan deberse a la función defectuosa de CFTR pero no cumplen con los criterios diagnósticos de la FQ se caracterizan como enfermedades relacionadas con el CFTR.

Además de la fibrosis quística, la modulación de la actividad de CFTR puede ser beneficiosa para otras enfermedades no generadas directamente por mutaciones en CFTR, tal como las enfermedades secretoras y otras enfermedades relacionadas con el plegamiento de proteínas mediadas por CFTR. CFTR regula el flujo de cloruro y bicarbonato a través de los epitelios de muchas células para controlar el movimiento de líquidos, la solubilización de proteínas, la viscosidad del moco y la actividad enzimática. Los defectos en CFTR pueden provocar la obstrucción de las vías respiratorias o de los conductos en muchos órganos, incluidos el hígado y el páncreas. Los potenciadores son compuestos que potencian la actividad de apertura y cierre del CFTR presente en la membrana celular. Cualquier enfermedad que implique el espesamiento del moco, la regulación alterada de líquidos, la eliminación alterada de mucosidad o conductos bloqueados que conducen a la inflamación y a la destrucción de tejido podría ser candidata para los potenciadores.

Estas incluyen, pero no se limitan a, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), el asma, la EPOC inducida por tabaquismo, la bronquitis crónica, la rinosinusitis, el estreñimiento, la enfermedad del ojo seco, y el síndrome de Sjögren, la enfermedad por reflujo gastroesofágico, los cálculos biliares, el prolapso rectal y la enfermedad inflamatoria intestinal. La EPOC se caracteriza por la limitación del flujo respiratorio que es progresiva y no completamente reversible. La limitación del flujo respiratorio se debe a la hipersecreción de mucosidad, al enfisema y a la bronquiolitis. Los activadores de CFTR mutante o de tipo silvestre ofrecen un tratamiento potencial

para la hipersecreción de mucosidad y el aclaramiento mucociliar alterado que es común en la EPOC. Concretamente, el aumento de la secreción de aniones a través de CFTR puede facilitar el transporte de líquido al líquido de la superficie de las vías respiratorias para hidratar el moco y optimizar la viscosidad del líquido periciliar. Esto conduciría a un aclaramiento mucociliar potenciado y a una reducción de los síntomas asociados con la EPOC.

5 Además, evitando la infección y la inflamación en curso gracias al despeje de las vías respiratorias, los moduladores de CFTR pueden prevenir o retardar la destrucción del parénquima de las vías respiratorias que caracteriza al enfisema y reducir o revertir el aumento del número y tamaño de células secretoras de moco que subyace a la hipersecreción de moco en las enfermedades de las vías respiratorias. La enfermedad del ojo seco se caracteriza por una disminución de la producción acuosa de lágrimas y perfiles anómalos de lípidos, proteínas y mucina en la película lacrimal. Existen muchas causas de ojo seco, algunas de las cuales incluyen la edad, la cirugía ocular LASIK, la artritis, los medicamentos, las quemaduras químicas/térmicas, las alergias y enfermedades tales como la fibrosis quística y el síndrome de Sjögren. El aumento de la secreción de aniones a través de CFTR potenciaría el transporte de líquidos desde las células del endotelio corneal y las glándulas secretoras que rodean el ojo para aumentar la hidratación corneal. Esto ayudaría a aliviar los síntomas asociados con la enfermedad del ojo seco. El síndrome de Sjögren es una enfermedad autoinmunitaria en la que el sistema inmunitario ataca a las glándulas productoras de humedad en todo el cuerpo, incluidos el ojo, la boca, la piel, el tejido respiratorio, el hígado, la vagina y el intestino. Los síntomas incluyen sequedad ocular, de boca y vaginal, así como enfermedad pulmonar. La enfermedad también está asociada con la artritis reumatoide, el lupus sistémico, la esclerosis sistémica y la polimiositis/dermatomiositis. Se cree que el tráfico defectuoso de proteínas origina la enfermedad, por lo que las opciones de tratamiento son limitadas. Los moduladores de la actividad de CFTR pueden hidratar los distintos órganos afectados por la enfermedad y pueden ayudar a aliviar los síntomas asociados. Los individuos con fibrosis quística tienen episodios recurrentes de obstrucción intestinal y una mayor incidencia de prolapso rectal, cálculos biliares, enfermedad por reflujo gastroesofágico, neoplasias GI y enfermedad inflamatoria intestinal, lo que indica que la función de CFTR puede desempeñar un papel importante en la prevención de tales enfermedades.

25 Como se ha analizado anteriormente, se cree que la eliminación del residuo 508 en  $\Delta F508$ -CFTR impide que la proteína naciente se pliegue correctamente, lo que da como resultado la incapacidad de esta proteína mutante para salir del RE y circular hasta la membrana plasmática. Como resultado, en la membrana plasmática hay cantidades insuficientes de la proteína madura y se reduce significativamente el transporte de cloruro dentro de los tejidos epiteliales. De hecho, se ha demostrado que este fenómeno celular del procesamiento defectuoso de CFTR en el RE por la maquinaria del RE es la base subyacente no solo para la enfermedad de FQ, sino para una gran diversidad de otras enfermedades aisladas y hereditarias. Las dos formas en las que la maquinaria del RE puede funcionar defectuosamente son por pérdida del acoplamiento con la exportación del RE de las proteínas lo que conduce a su degradación o por acumulación en el RE de estas proteínas defectuosas/incorrectamente plegadas [Aridor M, *et al.*, *Nature Med.*, 5 (7), págs. 745-751 (1999); Shastry, B.S., *et al.*, *Neurochem. International*, 43, págs. 1-7 (2003); Rutishauser, J., *et al.*, *Swiss Med Wkly*, 132, págs. 211-222 (2002); Morello, JP *et al.*, *TIPS*, 21, págs. 466-469 (2000); Bross P., *et al.*, *Human Mut.*, 14, págs. 186-198 (1999)]. Las enfermedades asociadas con la primera clase de mal funcionamiento del RE son la fibrosis quística (debida al  $\Delta F508$ -CFTR incorrectamente plegado como se ha analizado anteriormente), el enfisema hereditario (debido a la  $\alpha 1$ -antitripsina; variantes no Piz), la hemocromatosis hereditaria, las deficiencias de la coagulación-fibrinólisis, tal como la deficiencia de proteína C, el angioedema hereditario de tipo 1, las deficiencias en el procesamiento de lípidos, tal como la hipercolesterolemia familiar, la quilomicronemia de tipo 1, la abetalipoproteinemia, las enfermedades de depósito lisosomal, tal como la enfermedad de células I/pseudo-Hurler, la mucopolisacaridosis (debida a las enzimas de procesamiento lisosomal), Sandhof/Tay-Sachs (debido a  $\beta$ -hexosaminidasa), Crigler-Najjar de tipo II (debido a la UDP-glucuronil-sialiltransferasa), la poliendocrinopatía/hiperinsulinemia, la diabetes mellitus (debida al receptor de la insulina), el enanismo de Laron (debido al receptor de la hormona del crecimiento), la deficiencia de mieloperoxidasa, el hipoparatiroidismo primario (debido a la hormona preparatiroidica), el melanoma (debido a 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), el hipertiroidismo congénito, la osteogénesis imperfecta (debida al procolágeno de tipo I, II, IV), la hipofibrinogenemia hereditaria (debida al fibrinógeno), la deficiencia de ACT (debida a la  $\alpha 1$ -antiquimotripsina), la diabetes insípida (DI), la DI neurohipofisaria (debida a la hormona vasopresina/receptor V2), la DI nefrogénica (debida a la acuaporina II), el síndrome de Charcot-Marie Tooth (debido a la proteína de mielina periférica 22), la enfermedad de Pelizaeus-Merzbacher, enfermedades neurodegenerativas tales como la enfermedad de Alzheimer (debida a  $\beta$ APP y las presenilinas), la enfermedad de Parkinson, la esclerosis lateral amiotrófica, la parálisis supranuclear progresiva, la enfermedad de Pick, varios trastornos neurológicos de la poliglutamina tales como el Huntington, la ataxia espinocerebelosa de tipo I, la atrofia muscular espinal y bulbar, atrofia dentatorubro palidoluisiana y la distrofia miotónica, así como encefalopatías espongiiformes tales como la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob hereditaria (debida al defecto de procesamiento de proteínas priónicas), la enfermedad de Fabry (debida a la  $\alpha$ -galactosidasa A lisosomal), el síndrome de Straussler-Scheinker (debido a un defecto de procesamiento de Prp), la infertilidad, la pancreatitis, la insuficiencia pancreática, la osteoporosis, la osteopenia, el síndrome de Gorham, las canalopatías de cloruro, la miotonía congénita (formas Thomson y Becker), el síndrome de Bartter de tipo III, la enfermedad de Dent, la hiperekplexia, la epilepsia, la enfermedad de depósito lisosomal, el síndrome de Angelman, la discinesia ciliar primaria (DCP), la DCP con *situs inversus* (también conocida como síndrome de Kartagener), la DCP *sin situs inversus* y la aplasia ciliar y la enfermedad hepática.

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

Además de la regulación por aumento de la actividad de CFTR, la reducción de la secreción de aniones por los moduladores de CFTR puede ser beneficiosa para tratar las diarreas secretoras, en las que el transporte de agua epitelial aumenta drásticamente como resultado del transporte de cloruro activado por secretagogos. El mecanismo implica la elevación de AMPc y la estimulación de CFTR.

Aunque existen numerosas causas de diarrea, las principales consecuencias de las enfermedades diarreicas, resultado del excesivo transporte de cloruro son comunes a todas ellas, e incluyen deshidratación, acidosis, retraso del crecimiento y muerte. Las diarreas agudas y crónicas representan un problema médico importante en muchas zonas del mundo. La diarrea es a la vez un factor significativo en la desnutrición y la principal causa de muerte (5.000.000 muertes/año) en niños menores de cinco años de edad.

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

Por consiguiente, existe la necesidad de potenciadores de CFTR potentes y selectivos de formas de tipo silvestre y mutante de CFTR humano. Estas formas mutantes de CFTR incluyen, pero no se limitan a,  $\Delta F508$ del, G551D, R117H, 2789+5G->A.

También existe la necesidad de moduladores de la actividad de CFTR y composiciones de los mismos, que puedan utilizarse para modular la actividad de CFTR en la membrana celular de un mamífero.

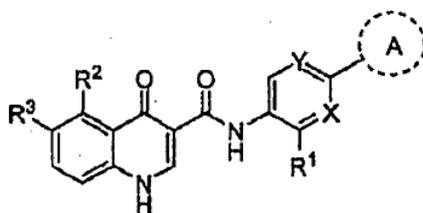
Existe la necesidad de métodos para tratar enfermedades debidas a la mutación en CFTR que utilicen tales moduladores de la actividad de CFTR.

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

En el documento WO 2006/003421 A1 se describen determinados compuestos útiles en la modulación de CFTR y para tratar diversas enfermedades mediadas por CFTR.

#### RESUMEN DE LA INVENCION

Se ha descubierto recientemente que los compuestos de la presente invención, y composiciones farmacéuticamente aceptables de los mismos, son útiles como moduladores de la actividad de CFTR. Estos compuestos tienen la fórmula general (I):



I

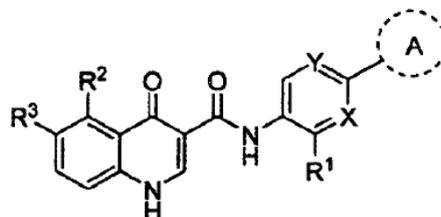
o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en la que R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, X, Y, y A se describen en general y en las clases y subclases que se presentan más adelante.

Estos compuestos y composiciones farmacéuticamente aceptables son útiles para tratar o disminuir la gravedad de diversas enfermedades, trastornos o afecciones asociadas con mutaciones en CFTR.

#### DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

*Descripción general de los compuestos de la invención:*

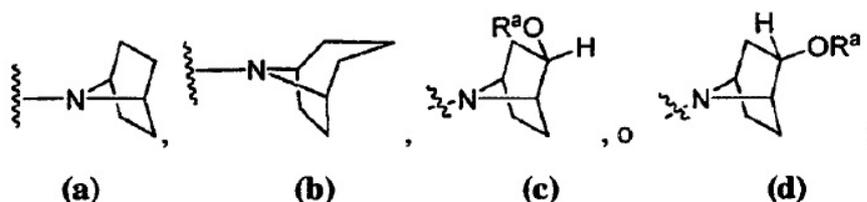
La presente invención se refiere a compuestos de Fórmula (I) útiles como moduladores de la actividad de CFTR:



(I);

o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en la que:

el anillo A está seleccionado de entre:



en la que:

R<sup>1</sup> es -CH<sub>3</sub>, -CF<sub>3</sub> o -CN;  
 R<sup>2</sup> es hidrógeno, -CH<sub>3</sub>, -CF<sub>3</sub>, -OH o -CH<sub>2</sub>OH;  
 R<sup>3</sup> es hidrógeno, -CH<sub>3</sub>, -OCH<sub>3</sub> o -CN;  
 siempre que,

R<sup>2</sup> y R<sup>3</sup> no sean simultáneamente hidrógeno;

X es carbono o nitrógeno;  
 Y es carbono o nitrógeno;  
 siempre que  
 X e Y no sean simultáneamente nitrógeno.

**Compuestos y definiciones:**

Los compuestos de la presente invención incluyen los descritos en general anteriormente, y se ilustran adicionalmente mediante las clases, subclases y especies descritas en el presente documento. Tal como se utilizan en el presente documento, se aplicarán las siguientes definiciones a menos que se indique otra cosa.

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

El término "CFTR", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere al regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística o a una mutación del mismo que puede tener actividad reguladora, incluidos, pero no limitados a, ΔF508-CFTR, R117H CFTR y G551D CFTR (véase, por ejemplo, <http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/>, para las mutaciones de CFTR).

La expresión "que modula" tal como se utiliza en el presente documento, se refiere al aumento o disminución en una cantidad mensurable.

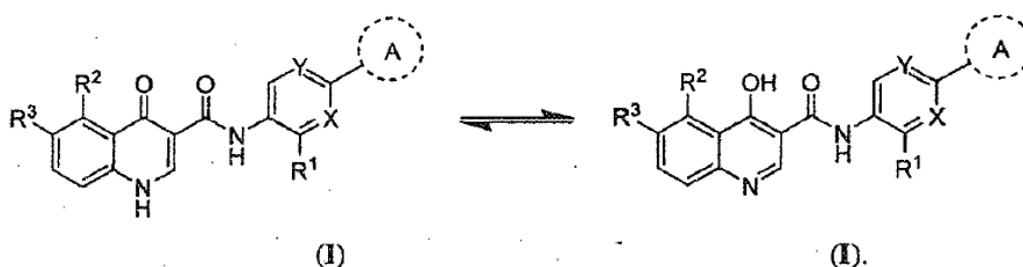
La expresión "CFTR normal" o "función normal de CFTR", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere al CFTR de tipo silvestre sin alteración alguna debida a factores ambientales tales como el tabaquismo, la contaminación o cualquier factor que produzca inflamación en los pulmones.

La expresión "CFTR reducida" o "función reducida de CFTR", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a menos del CFTR normal o menos de la función normal de CFTR. Para los fines de la presente invención, los elementos químicos se identifican según la Tabla Periódica de los Elementos, versión CAS, Handbook of Chemistry and Physics, 75ª ed. Además, los principios generales de la química orgánica se describen en "Organic Chemistry", Thomas Sorrell, University Science Books, Sausalito: 1999, y "March's Advanced Organic Chemistry", 5ª ed., Ed.: Smith, M.B. y March, J., John Wiley & Sons, Nueva York: 2001.

Las combinaciones de sustituyentes previstas por la presente invención son preferentemente aquellas que dan como resultado la formación de compuestos estables o químicamente factibles. El término "estable", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a compuestos que no se modifican sustancialmente cuando se someten a condiciones para permitir su producción, detección, y preferentemente su recuperación, purificación y uso para uno o más de los fines descritos en el presente documento. En algunas formas de realización, un compuesto estable o compuesto químicamente factible es aquel que no se modifica 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.

La expresión "grupo protector", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a un agente utilizado para bloquear temporalmente uno o más sitios reactivos deseados en un compuesto multifuncional. En determinadas formas de realización, un grupo protector tiene una o más, o preferentemente todas, las siguientes características: a) reacciona selectivamente con buen rendimiento para dar un sustrato protegido que es estable a las reacciones que se producen en uno o más de los demás sitios reactivos; y b) puede extraerse selectivamente con buen rendimiento mediante reactivos que no atacan al grupo funcional regenerado. Se detallan grupos protectores ejemplares en Greene, T.W., Wuts, P. G en "Protective Groups in Organic Synthesis", tercera edición, John Wiley & Sons, Nueva York: 1999 y otras ediciones de este libro.

A menos que se indique otra cosa, las estructuras representadas en el presente documento también pretenden incluir todas las formas isómeras (por ejemplo, formas 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 pertenecen al alcance de la invención. A menos que se indique otra cosa, todas las formas tautómeras de los compuestos de la invención pertenecen al alcance de la invención; por ejemplo, los compuestos de Fórmula (I) puede existir como tautómeros:



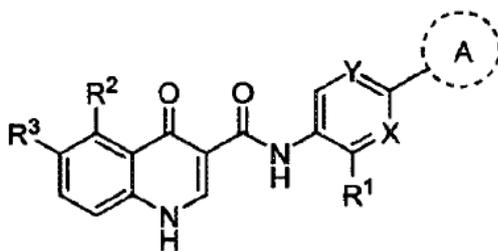
Además, a menos que se indique otra cosa, las estructuras representadas en el presente documento también pretenden incluir compuestos que difieren sólo en la presencia de uno o más átomos enriquecidos isotópicamente. Por ejemplo, pertenecen al alcance de la presente invención los compuestos que tengan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

*Descripción de los compuestos ejemplares:*

Según una forma de realización, la presente invención proporciona compuestos de Fórmula (I):

5

10



(I);

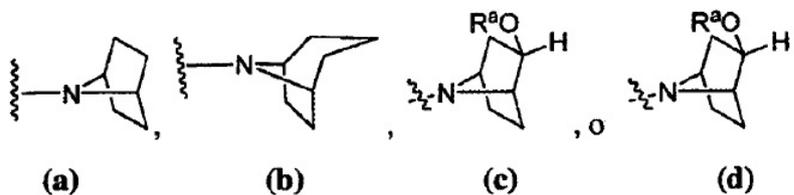
15

o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en la que:

el anillo A está seleccionado de entre:

20

25



30

en la que:

35

R<sup>1</sup> es -CH<sub>3</sub>, -CF<sub>3</sub> o -CN;  
 R<sup>2</sup> es hidrógeno, -CH<sub>3</sub>, -CF<sub>3</sub>, -OH o -CH<sub>2</sub>OH;  
 R<sup>3</sup> es hidrógeno, -CH<sub>3</sub>, -OCH<sub>3</sub> o -CN;  
 siempre que,

40

R<sup>2</sup> y R<sup>3</sup> no sean simultáneamente hidrógeno; y

uno entre X e Y es nitrógeno y el otro es carbono.

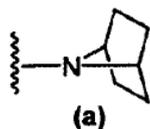
45

En un aspecto de esta forma de realización, el compuesto es la amina libre.

En otro aspecto, el compuesto está en forma de sal farmacéuticamente aceptable, tal como la sal HCl.

En una forma de realización, el anillo A es

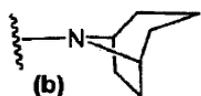
50



55

En una forma de realización, el anillo A es

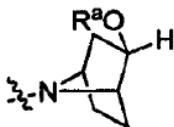
60



65

En otra forma de realización, el anillo A es

5

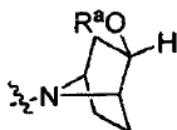


(c)

10

En otra forma de realización, el anillo A es

15



(d)

20

En una forma de realización, R<sup>1</sup> es -CH<sub>3</sub>.

25

En una forma de realización, R<sup>1</sup> es -CF<sub>3</sub>.

En otra forma de realización, R<sup>1</sup> es -CN.

30

En una forma de realización, R<sup>2</sup> es -CH<sub>3</sub>.

En otra forma de realización, R<sup>2</sup> es -CF<sub>3</sub>.

En otra forma de realización, R<sup>2</sup> es -OH.

35

En otra forma de realización, R<sup>2</sup> es -CH<sub>2</sub>OH.

En una forma de realización, R<sup>3</sup> es -CH<sub>3</sub>.

40

En una forma de realización, R<sup>3</sup> es -OCH<sub>3</sub>.

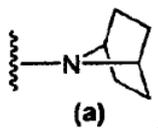
En otra forma de realización, R<sup>3</sup> es -CN.

En una forma de realización, R<sup>2</sup> es hidrógeno; y R<sup>3</sup> es -CH<sub>3</sub>, -OCH<sub>3</sub> o -CN.

45

En varias formas de realización de Fórmula (I), el anillo A es

50



(a)

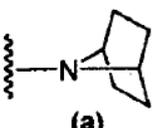
55

R<sup>1</sup> es -CF<sub>3</sub>, R<sup>2</sup> es hidrógeno; y R<sup>3</sup> es -CH<sub>3</sub>, -OCH<sub>3</sub> o -CN. En otras formas de realización, R<sup>1</sup> es -CH<sub>3</sub>. En otras formas de realización, R<sup>1</sup> es -CN. En una forma de realización, R<sup>3</sup> es -OCH<sub>3</sub>. O, R<sup>3</sup> es -CH<sub>3</sub>. O, R<sup>3</sup> es -CN.

60

En formas de realización adicionales de Fórmula (I), el anillo A es

65



(a)

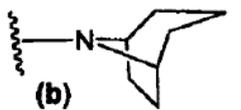
R<sup>1</sup> es -CF<sub>3</sub>, R<sup>2</sup> es -CH<sub>3</sub>, -CF<sub>3</sub>, -OH o -CH<sub>2</sub>OH, y R<sup>3</sup> es hidrógeno. En otras formas de realización, R<sup>1</sup> es -CH<sub>3</sub>. En otras formas de realización, R<sup>1</sup> es -CN. En una forma de realización, R<sup>2</sup> es -CH<sub>3</sub>. O, R<sup>2</sup> es -CF<sub>3</sub>. O, R<sup>2</sup> es -OH. O, R<sup>2</sup> es -CH<sub>2</sub>OH.

5

En otra forma de realización, R<sup>2</sup> es -CH<sub>3</sub>, -CF<sub>3</sub>, -OH o -CH<sub>2</sub>OH; y R<sup>3</sup> es hidrógeno.

En varias formas de realización de Fórmula (I), el anillo A es

10



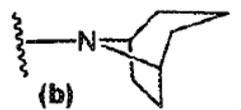
15

R<sup>1</sup> es -CF<sub>3</sub>, R<sup>2</sup> es hidrógeno; y R<sup>3</sup> es -CH<sub>3</sub>, -OCH<sub>3</sub> o -CN. En otras formas de realización, R<sup>1</sup> es -CH<sub>3</sub>. En otras formas de realización, R<sup>1</sup> es -CN. En una forma de realización, R<sup>3</sup> es -CH<sub>3</sub>. O, R<sup>3</sup> es -OCH<sub>3</sub>. O, R<sup>3</sup> es -CN.

20

En varias formas de realización de Fórmula (I), el anillo A es

25

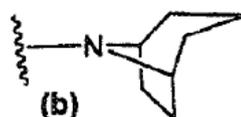


30

R<sup>1</sup> es -CF<sub>3</sub>, R<sup>2</sup> es hidrógeno; y R<sup>3</sup> es -CH<sub>3</sub>, -OCH<sub>3</sub> o -CN. En otras formas de realización, R<sup>1</sup> es -CH<sub>3</sub>. En otras formas de realización, R<sup>1</sup> es -CN. En una forma de realización, R<sup>3</sup> es -CH<sub>3</sub>. O, R<sup>3</sup> es -OCH<sub>3</sub>. O, R<sup>3</sup> es -CN.

En formas de realización adicionales de Fórmula (I), el anillo A es

35



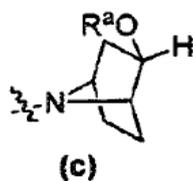
40

R<sup>1</sup> es -CF<sub>3</sub>, R<sup>2</sup> es -CH<sub>3</sub>, -CF<sub>3</sub>, -OH o -CH<sub>2</sub>OH, y R<sup>3</sup> es hidrógeno. En otras formas de realización, R<sup>1</sup> es -CH<sub>3</sub>. En otras formas de realización, R<sup>1</sup> es -CN. En una forma de realización, R<sup>2</sup> es -CH<sub>3</sub>. O, R<sup>2</sup> es -CF<sub>3</sub>. O, R<sup>2</sup> es -OH. O, R<sup>2</sup> es -CH<sub>2</sub>OH.

45

En varias formas de realización de Fórmula (I), el anillo A es

50



55

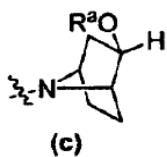
R<sup>1</sup> es -CF<sub>3</sub>, R<sup>2</sup> es hidrógeno; y R<sup>3</sup> es -CH<sub>3</sub>, -OCH<sub>3</sub> o -CN. En otras formas de realización, R<sup>1</sup> es -CH<sub>3</sub>. En otras formas de realización, R<sup>1</sup> es -CN. En una forma de realización, R<sup>3</sup> es -CH<sub>3</sub>. O, R<sup>3</sup> es -OCH<sub>3</sub>. O, R<sup>3</sup> es -CN.

60

En formas de realización adicionales de Fórmula (I), el anillo A es

65

5

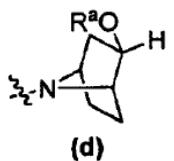


10

R<sup>1</sup> es -CF<sub>3</sub>, R<sup>2</sup> es -CH<sub>3</sub>, -CF<sub>3</sub>, -OH o -CH<sub>2</sub>OH, y R<sup>3</sup> es hidrógeno. En otras formas de realización, R<sup>1</sup> es -CH<sub>3</sub>. En otras formas de realización, R<sup>1</sup> es -CN. En una forma de realización, R<sup>2</sup> es -CH<sub>3</sub>. O, R<sup>2</sup> es -CF<sub>3</sub>. O, R<sup>2</sup> es -OH. O, R<sup>2</sup> es -CH<sub>2</sub>OH.

En varias formas de realización de Fórmula (I), el anillo A es

15



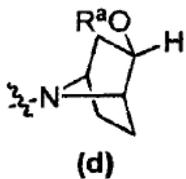
20

25

R<sup>1</sup> es -CF<sub>3</sub>, R<sup>2</sup> es hidrógeno; y R<sup>3</sup> es -CH<sub>3</sub>, -OCH<sub>3</sub> o -CN. En otras formas de realización, R<sup>1</sup> es -CH<sub>3</sub>. En otras formas de realización, R<sup>1</sup> es -CN. En una forma de realización, R<sup>3</sup> es -CH<sub>3</sub>. O, R<sup>3</sup> es -OCH<sub>3</sub>. O, R<sup>3</sup> es -CN.

En formas de realización adicionales de Fórmula (I), el anillo A es

30



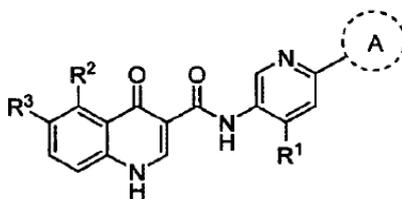
35

40

R<sup>1</sup> es -CF<sub>3</sub>, R<sup>2</sup> es -CH<sub>3</sub>, -CF<sub>3</sub>, -OH o -CH<sub>2</sub>OH, y R<sup>3</sup> es hidrógeno. En otras formas de realización, R<sup>1</sup> es -CH<sub>3</sub>. En otras formas de realización, R<sup>1</sup> es -CN. En una forma de realización, R<sup>2</sup> es -CH<sub>3</sub>. O, R<sup>2</sup> es -CF<sub>3</sub>. O, R<sup>2</sup> es -OH. O, R<sup>2</sup> es -CH<sub>2</sub>OH.

Según otra forma de realización, la presente invención proporciona compuestos de Fórmula (Ia):

45



50

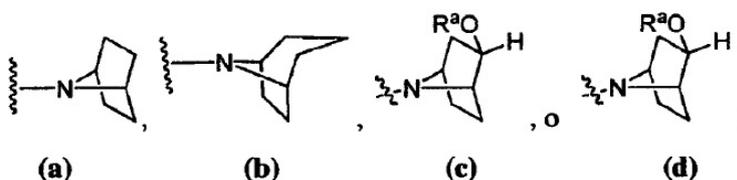
(Ia);

55

o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en la que:

el anillo A está seleccionado de entre:

60



65

en la que:

- 5  $R^1$  es  $-\text{CH}_3$ ,  $-\text{CF}_3$  o  $-\text{CN}$ ;  
 $R^2$  es hidrógeno,  $-\text{CH}_3$ ,  $-\text{CF}_3$ ,  $-\text{OH}$  o  $-\text{CH}_2\text{OH}$ ;  
 $R^3$  es hidrógeno,  $-\text{CH}_3$ ,  $-\text{OCH}_3$  o  $-\text{CN}$ ;  
 siempre que,

$R^2$  y  $R^3$  no sean simultáneamente hidrógeno.

- 10 En una forma de realización de Fórmula (1a), el anillo A es



- 20 En una forma de realización de Fórmula (1a), el anillo A es



- 30 En otra forma de realización de Fórmula (1a), el anillo A es



- 40 En aun otra forma de realización de Fórmula (1a), el anillo A es



- 50 En una forma de realización de Fórmula (1a),  $R^1$  es  $-\text{CH}_3$ .

En una forma de realización de Fórmula (1a),  $R^1$  es  $-\text{CF}_3$ .

- 55 En otra forma de realización de Fórmula (1a),  $R^1$  es  $-\text{CN}$ .

En una forma de realización de Fórmula (1a),  $R^2$  es  $-\text{CH}_3$ .

- 60 En otra forma de realización de Fórmula (1a),  $R^2$  es  $-\text{CF}_3$ .

En otra forma de realización de Fórmula (1a),  $R^2$  es  $-\text{OH}$ .

En otra forma de realización de Fórmula (1a),  $R^2$  es  $-\text{CH}_2\text{OH}$ .

- 65 En una forma de realización de Fórmula (1a),  $R^3$  es  $-\text{CH}_3$ .

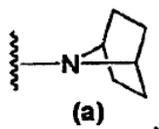
En una forma de realización de Fórmula (Ia), R<sup>3</sup> es -OCH<sub>3</sub>.

En otra forma de realización de Fórmula (Ia), R<sup>3</sup> es -CN.

5 En una forma de realización de Fórmula (Ia), R<sup>2</sup> es hidrógeno; y R<sup>3</sup> es -CH<sub>3</sub>, -OCH<sub>3</sub> o -CN.

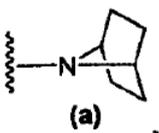
En otra forma de realización de Fórmula (Ia), R<sup>2</sup> es -CH<sub>3</sub>, -CF<sub>3</sub>, -OH o -CH<sub>2</sub>OH; y R<sup>3</sup> es hidrógeno.

10 En varias formas de realización de Fórmula (Ia), el anillo A es



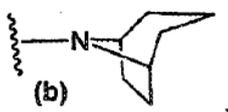
20 R<sup>1</sup> es -CF<sub>3</sub>, R<sup>2</sup> es hidrógeno; y R<sup>3</sup> es -CH<sub>3</sub>, -OCH<sub>3</sub> o -CN. En otras formas de realización, R<sup>1</sup> es -CH<sub>3</sub>. En otras formas de realización, R<sup>1</sup> es -CN. En una forma de realización, R<sup>3</sup> es -OCH<sub>3</sub>. O, R<sup>3</sup> es -CH<sub>3</sub>. O, R<sup>3</sup> es -CN.

En formas de realización adicionales de Fórmula (Ia), el anillo A es



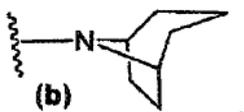
30 R<sup>1</sup> es -CF<sub>3</sub>, R<sup>2</sup> es -CH<sub>3</sub>, -CF<sub>3</sub>, -OH o -CH<sub>2</sub>OH, y R<sup>3</sup> es hidrógeno. En otras formas de realización, R<sup>1</sup> es -CH<sub>3</sub>. En otras formas de realización, R<sup>1</sup> es -CN. En una forma de realización, R<sup>2</sup> es -CH<sub>3</sub>. O, R<sup>2</sup> es -CF<sub>3</sub>. O, R<sup>2</sup> es -OH. O, R<sup>2</sup> es -CH<sub>2</sub>OH.

35 En varias formas de realización de Fórmula (Ia), el anillo A es



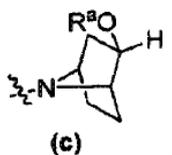
45 R<sup>1</sup> es -CF<sub>3</sub>, R<sup>2</sup> es hidrógeno; y R<sup>3</sup> es -CH<sub>3</sub>, -OCH<sub>3</sub> o -CN. En otras formas de realización, R<sup>1</sup> es -CH<sub>3</sub>. En otras formas de realización, R<sup>1</sup> es -CN. En una forma de realización, R<sup>3</sup> es -CH<sub>3</sub>. O, R<sup>3</sup> es -OCH<sub>3</sub>. O, R<sup>3</sup> es -CN.

En formas de realización adicionales de Fórmula (Ia), el anillo A es



55 R<sup>1</sup> es -CF<sub>3</sub>, R<sup>2</sup> es -CH<sub>3</sub>, -CF<sub>3</sub>, -OH o -CH<sub>2</sub>OH, y R<sup>3</sup> es hidrógeno. En otras formas de realización, R<sup>1</sup> es -CH<sub>3</sub>. En otras formas de realización, R<sup>1</sup> es -CN. En una forma de realización, R<sup>2</sup> es -CH<sub>3</sub>. O, R<sup>2</sup> es -CF<sub>3</sub>. O, R<sup>2</sup> es -OH. O, R<sup>2</sup> es -CH<sub>2</sub>OH.

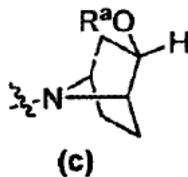
En varias formas de realización de Fórmula (Ia), el anillo A es



R<sup>1</sup> es -CF<sub>3</sub>, R<sup>2</sup> es hidrógeno; y R<sup>3</sup> es -CH<sub>3</sub>, -OCH<sub>3</sub> o -CN. En otras formas de realización, R<sup>1</sup> es -CH<sub>3</sub>. En otras formas de realización, R<sup>1</sup> es -CN. En una forma de realización, R<sup>3</sup> es -CH<sub>3</sub>. O, R<sup>3</sup> es -OCH<sub>3</sub>. O, R<sup>3</sup> es -CN.

En formas de realización adicionales de Fórmula (1a), el anillo A es

5



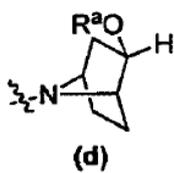
10

R<sup>1</sup> es -CF<sub>3</sub>, R<sup>2</sup> es -CH<sub>3</sub>, -CF<sub>3</sub>, -OH o -CH<sub>2</sub>OH, y R<sup>3</sup> es hidrógeno. En otras formas de realización, R<sup>1</sup> es -CH<sub>3</sub>. En otras formas de realización, R<sup>1</sup> es -CN. En una forma de realización, R<sup>2</sup> es -CH<sub>3</sub>. O, R<sup>2</sup> es -CF<sub>3</sub>. O, R<sup>2</sup> es -OH. O, R<sup>2</sup> es -CH<sub>2</sub>OH.

15

En varias formas de realización de Fórmula (1a), el anillo A es

20



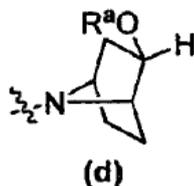
25

R<sup>1</sup> es -CF<sub>3</sub>, R<sup>2</sup> es hidrógeno; y R<sup>3</sup> es -CH<sub>3</sub>, -OCH<sub>3</sub> o -CN. En otras formas de realización, R<sup>1</sup> es -CH<sub>3</sub>. En otras formas de realización, R<sup>1</sup> es -CN. En una forma de realización, R<sup>3</sup> es -CH<sub>3</sub>. O, R<sup>3</sup> es -OCH<sub>3</sub>. O, R<sup>3</sup> es -CN.

30

En formas de realización adicionales de Fórmula (1a), el anillo A es

35



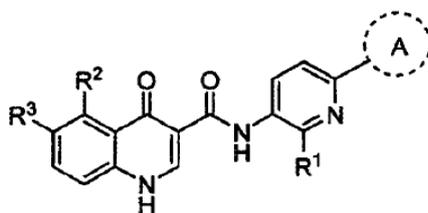
40

R<sup>1</sup> es -CF<sub>3</sub>, R<sup>2</sup> es -CH<sub>3</sub>, -CF<sub>3</sub>, -OH o -CH<sub>2</sub>OH, y R<sup>3</sup> es hidrógeno. En otras formas de realización, R<sup>1</sup> es -CH<sub>3</sub>. En otras formas de realización, R<sup>1</sup> es -CN. En una forma de realización, R<sup>2</sup> es -CH<sub>3</sub>. O, R<sup>2</sup> es -CF<sub>3</sub>. O, R<sup>2</sup> es -OH. O, R<sup>2</sup> es -CH<sub>2</sub>OH.

45

Según otra forma de realización, la presente invención proporciona compuestos de Fórmula (1b):

50



55

(1b);

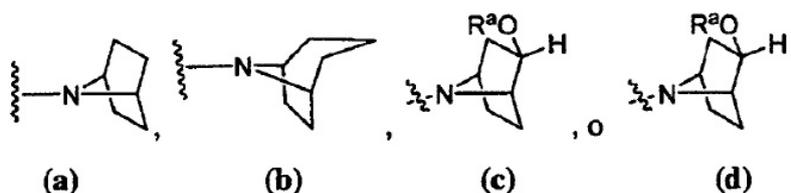
o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en la que:

60

el anillo A está seleccionado de entre:

65

5



10

en la que:

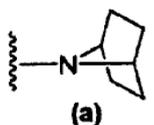
15  
 $R^1$  es  $-\text{CH}_3$ ,  $-\text{CF}_3$  o  $-\text{CN}$ ;  
 $R^2$  es hidrógeno,  $-\text{CH}_3$ ,  $-\text{CF}_3$ ,  $-\text{OH}$  o  $-\text{CH}_2\text{OH}$ ;  
 $R^3$  es hidrógeno,  $-\text{CH}_3$ ,  $-\text{OCH}_3$  o  $-\text{CN}$ ;  
 siempre que,

$R^2$  y  $R^3$  no sean simultáneamente hidrógeno.

20

En una forma de realización de Fórmula (Ib), el anillo A es

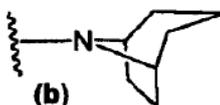
25



30

En una forma de realización de Fórmula (Ib), el anillo A es

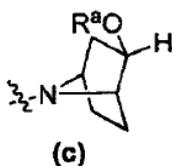
35



40

En otra forma de realización de Fórmula (Ib), el anillo A es

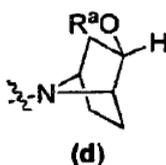
45



50

En aun otra forma de realización de Fórmula (Ib), el anillo A es

55



60

En una forma de realización de Fórmula (Ib),  $R^1$  es  $-\text{CH}_3$ .

En una forma de realización de Fórmula (Ib),  $R^1$  es  $-\text{CF}_3$ .

65

En otra forma de realización de Fórmula (Ib),  $R^1$  es  $-\text{CN}$ .

En una forma de realización de Fórmula (Ib),  $R^2$  es  $-\text{CH}_3$ .

En otra forma de realización de Fórmula (Ib), R<sup>2</sup> es -CF<sub>3</sub>.

En otra forma de realización de Fórmula (Ib), R<sup>2</sup> es -OH.

5 En otra forma de realización de Fórmula (Ib), R<sup>2</sup> es -CH<sub>2</sub>OH.

En una forma de realización de Fórmula (Ib), R<sup>3</sup> es -CH<sub>3</sub>.

10 En una forma de realización de Fórmula (Ib), R<sup>3</sup> es -OCH<sub>3</sub>.

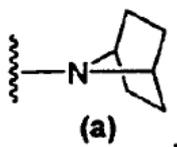
En otra forma de realización de Fórmula (Ib), R<sup>3</sup> es -CN.

En una forma de realización de Fórmula (Ib), R<sup>2</sup> es hidrógeno; y R<sup>3</sup> es -CH<sub>3</sub>, -OCH<sub>3</sub> o -CN.

15 En otra forma de realización de Fórmula (Ib), R<sup>2</sup> es -CH<sub>3</sub>, -CF<sub>3</sub>, -OH o -CH<sub>2</sub>OH; y R<sup>3</sup> es hidrógeno.

En varias formas de realización de Fórmula (Ib), el anillo A es

20

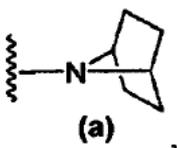


25

R<sup>1</sup> es -CF<sub>3</sub>, R<sup>2</sup> es hidrógeno; y R<sup>3</sup> es -CH<sub>3</sub>, -OCH<sub>3</sub>, -OR -CN. En otras formas de realización, R<sup>1</sup> es -CN. En otras formas de realización, R<sup>1</sup> es -CH<sub>3</sub>. En una forma de realización, R<sup>3</sup> es -OCH<sub>3</sub>. O, R<sup>3</sup> es -CH<sub>3</sub>. O, R<sup>3</sup> es -CN.

En formas de realización adicionales de Fórmula (Ib), el anillo A es

30



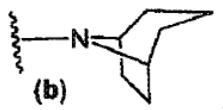
35

R<sup>1</sup> es -CF<sub>3</sub>, R<sup>2</sup> es -CH<sub>3</sub>, -CF<sub>3</sub>, -OH o -CH<sub>2</sub>OH, y R<sup>3</sup> es hidrógeno. En otras formas de realización, R<sup>1</sup> es -CN. En otras formas de realización, R<sup>1</sup> es -CH<sub>3</sub>. En una forma de realización, R<sup>2</sup> es -CH<sub>3</sub>. O, R<sup>2</sup> es -CF<sub>3</sub>. O, R<sup>2</sup> es -OH. O, R<sup>2</sup> es -CH<sub>2</sub>OH.

40

En varias formas de realización de Fórmula (Ib), el anillo A es

45

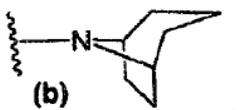


50

R<sup>1</sup> es -CF<sub>3</sub>, R<sup>2</sup> es hidrógeno; y R<sup>3</sup> es -CH<sub>3</sub>, -OCH<sub>3</sub> o -CN. En otras formas de realización, R<sup>1</sup> es -CN. En otras formas de realización, R<sup>1</sup> es -CH<sub>3</sub>. En una forma de realización, R<sup>3</sup> es -CH<sub>3</sub>. O, R<sup>3</sup> es -OCH<sub>3</sub>. O, R<sup>3</sup> es -CN.

En formas de realización adicionales de Fórmula (Ib), el anillo A es

55



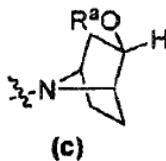
60

R<sup>1</sup> es -CF<sub>3</sub>, R<sup>2</sup> es -CH<sub>3</sub>, -CF<sub>3</sub>, -OH o -CH<sub>2</sub>OH, y R<sup>3</sup> es hidrógeno. En otras formas de realización, R<sup>1</sup> es -CN. En otras formas de realización, R<sup>1</sup> es -CH<sub>3</sub>. En una forma de realización, R<sup>2</sup> es -CH<sub>3</sub>. O, R<sup>2</sup> es -CF<sub>3</sub>. O, R<sup>2</sup> es -OH. O, R<sup>2</sup> es -CH<sub>2</sub>OH.

65

En varias formas de realización de Fórmula (Ib) el anillo A es

5



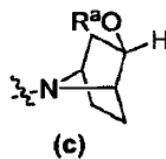
10

R<sup>1</sup> es -CF<sub>3</sub>, R<sup>2</sup> es hidrógeno; y R<sup>3</sup> es -CH<sub>3</sub>, -OCH<sub>3</sub> o -CN. En otras formas de realización, R<sup>1</sup> es -CN. En otras formas de realización, R<sup>1</sup> es -CH<sub>3</sub>. En una forma de realización, R<sup>3</sup> es -CH<sub>3</sub>. O, R<sup>3</sup> es -OCH<sub>3</sub>. O, R<sup>3</sup> es -CN.

15

En formas de realización adicionales de Fórmula (Ib), el anillo A es

20



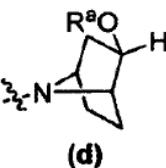
25

R<sup>1</sup> es -CF<sub>3</sub>, R<sup>2</sup> es -CH<sub>3</sub>, -CF<sub>3</sub>, -OH o -CH<sub>2</sub>OH, y R<sup>3</sup> es hidrógeno. En otras formas de realización, R<sup>1</sup> es -CN. En otras formas de realización, R<sup>1</sup> es -CH<sub>3</sub>. En una forma de realización, R<sup>2</sup> es -CH<sub>3</sub>. O, R<sup>2</sup> es -CF<sub>3</sub>. O, R<sup>2</sup> es -OH. O, R<sup>2</sup> es -CH<sub>2</sub>OH.

30

En varias formas de realización de Fórmula (Ib), el anillo A es

35



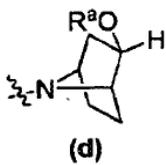
40

R<sup>1</sup> es -CF<sub>3</sub>, R<sup>2</sup> es hidrógeno; y R<sup>3</sup> es -CH<sub>3</sub>, -OCH<sub>3</sub> o -CN. En otras formas de realización, R<sup>1</sup> es -CN. En otras formas de realización, R<sup>1</sup> es -CH<sub>3</sub>. En una forma de realización, R<sup>3</sup> es -CH<sub>3</sub>. O, R<sup>3</sup> es -OCH<sub>3</sub>. O, R<sup>3</sup> es -CN.

45

En formas de realización adicionales de Fórmula (Ib), el anillo A es

50



55

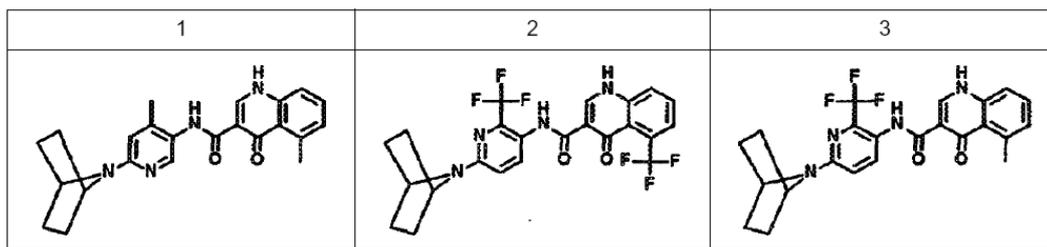
R<sup>1</sup> es -CF<sub>3</sub>, R<sup>2</sup> es -CH<sub>3</sub>, -CF<sub>3</sub>, -OH o -CH<sub>2</sub>OH, y R<sup>3</sup> es hidrógeno. En otras formas de realización, R<sup>1</sup> es -CN. En otras formas de realización, R<sup>1</sup> es -CH<sub>3</sub>. En una forma de realización, R<sup>2</sup> es -CH<sub>3</sub>. O, R<sup>2</sup> es -CF<sub>3</sub>. O, R<sup>2</sup> es -OH. O, R<sup>2</sup> es -CH<sub>2</sub>OH.

60

Los compuestos representativos de la presente invención se exponen a continuación en la siguiente Tabla 1.

65

Tabla 1



### Esquemas generales de síntesis

Los compuestos de la presente invención se preparan fácilmente mediante métodos conocidos en la técnica. En los esquemas de los Ejemplos que se presentan más adelante se ilustran métodos ejemplares para la preparación de los compuestos de la presente invención.

### Usos, formulación y administración

#### Composiciones farmacéuticamente aceptables

En un aspecto de la presente invención, se proporcionan composiciones farmacéuticamente aceptables, en las que estas composiciones comprenden cualquiera de los compuestos como se describen en el presente documento, y comprenden opcionalmente un excipiente, adyuvante o vehículo farmacéuticamente aceptable. En determinadas formas de realización, estas composiciones comprenden adicionalmente de manera opcional uno o más agentes terapéuticos adicionales.

También se comprenderá que algunos de los compuestos de la presente invención pueden existir en forma libre para el tratamiento o cuando sea apropiado, como un derivado farmacéuticamente aceptable o un profármaco del mismo. Un derivado farmacéuticamente aceptable o un profármaco incluye, pero no se limita a, ésteres, sales de tales ésteres, sales farmacéuticamente aceptables, o cualquier otro aducto o derivado, que tras la administración a un paciente que lo necesita es capaz de proporcionar, directa o indirectamente, un compuesto como se describe de otra manera en el presente documento, o un metabolito o residuo del mismo.

Tal como se utiliza en el presente documento, la expresión "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a aquellas sales que son, dentro del alcance del criterio médico, adecuadas para su uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales inferiores sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica y similares, y acordes con una relación beneficio/riesgo razonable. Una "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a cualquier sal o sal de un éster de un compuesto de la presente invención, no tóxica, que, tras la administración a un receptor, es capaz de proporcionar, directa o indirectamente, un compuesto de la presente invención o un metabolito con actividad inhibidora o residuo del mismo.

Las sales farmacéuticamente aceptables son bien conocidas en la técnica. Por ejemplo, S. M. Berge, *et al.* describen 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 derivadas de bases y ácidos 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 utilizando otros métodos utilizados en la técnica tales como el intercambio iónico.

Otras sales farmacéuticamente aceptables incluyen sales de adipato, alginato, ascorbato, aspartato, bencenosulfonato, benzoato, bisulfato, borato, butirato, canforato, canforsulfonato, citrato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, edisilato (etanodisulfonato), etanosulfonato, formiato, fumarato, glucoheptonato, glicerofosfato, gluconato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, hidroyoduro, 2-hidroxi-etanosulfonato, lactobionato, lactato, laurato, lauril sulfato, malato, maleato, malonato, metanosulfonato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, nitrato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, fosfato, picrato, pivalato, propionato, estearato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato, p-toluenosulfonato, undecanoato, valerato, y similares. Las sales derivadas de bases apropiadas incluyen sales de metales alcalinos, metales alcalinotérreos, amonio y N<sup>+</sup> (alquilo C<sub>1-4</sub>)<sub>4</sub>. La presente invención también prevé la cuaternización de cualquier grupo básico que contiene nitrógeno de los compuestos descritos en el presente documento. Pueden obtenerse productos dispersables o solubles en aceite o agua mediante tal cuaternización. Las sales de metales alcalinos o alcalinotérreos representativas incluyen sodio, litio, potasio, calcio, magnesio, y similares. Las sales farmacéuticamente aceptables adicionales incluyen, cuando

sea apropiado, amonio no tóxico, amonio cuaternario y cationes amina formados utilizando contraiones tales como haluro, hidróxido, carboxilato, sulfato, fosfato, nitrato, sulfonato de alquilo inferior y sulfonato de arilo.

5 Como se ha descrito anteriormente, las composiciones farmacéuticamente aceptables de la presente  
 invención comprenden adicionalmente un excipiente, adyuvante o vehículo farmacéuticamente aceptable, que, tal  
 como se utiliza en el presente documento, incluye cualquiera y todos los disolventes, diluyentes, u otro vehículo  
 10 líquido, auxiliares de suspensión o dispersión, tensioactivos, agentes isotónicos, agentes espesantes o  
 emulsionantes, conservantes, aglutinantes sólidos, lubricantes y similares, tal como resulte adecuado para la forma  
 de dosificación concreta deseada. En el documento Remington's Pharmaceutical Sciences, decimosexta edición,  
 E.W. Martin (Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1980) se describen diversos vehículos utilizados en la formulación de  
 15 composiciones farmacéuticamente aceptables y técnicas conocidas para la preparación de los mismos. Excepto en  
 la medida en que cualquier medio vehicular convencional sea incompatible con los compuestos de la invención, tal  
 como que produzca cualquier efecto biológico indeseable o interactúe de otro modo de manera perjudicial con  
 cualquier otro componente o componentes de la composición farmacéuticamente aceptable, también queda  
 20 contemplado su uso dentro del alcance de la presente invención. Algunos ejemplos de materiales que pueden hacer  
 de vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, intercambiadores de iones, alúmina,  
 estearato de aluminio, lecitina, proteínas séricas, tales como seroalbúmina humana, sustancias tampón tales como  
 fosfatos, glicina, ácido sórbico o sorbato de potasio, mezclas parciales de glicéridos de ácidos grasos vegetales  
 25 saturados, agua, sales o electrolitos, tales como sulfato de protamina, hidrogenofosfato disódico, hidrogenofosfato  
 de potasio, cloruro de sodio, sales de cinc, sílice coloidal, trisilicato de magnesio, polivinilpirrolidona, poliácridatos,  
 ceras, polímeros de 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  
 30 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; amortiguadores del  
 pH tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; ácido algínico; agua apirógena; solución salina  
 isotónica; solución de Ringer; alcohol etílico, y soluciones de tampón fosfato, así como otros lubricantes compatibles  
 no tóxicos tales como lauril sulfato sódico y estearato de magnesio, así como colorantes, agentes de liberación,  
 35 agentes de recubrimiento, edulcorantes, saporíferos y aromatizantes, conservantes y antioxidantes también pueden  
 estar presentes en la composición, según el criterio del formulador.

#### *Usos de los compuestos y composiciones farmacéuticamente aceptables*

35 En otro aspecto, la presente invención proporciona un compuesto de Fórmula (I) para su uso en un método  
 para tratar o disminuir la gravedad de una afección, enfermedad o trastorno implicado por la mutación de CFTR. En  
 determinadas formas de realización, la presente invención proporciona un compuesto de Fórmula (I) para su uso en  
 un método de tratamiento de una afección, enfermedad o trastorno implicado por una deficiencia de la actividad de  
 40 CFTR, comprendiendo el método la administración de una composición que comprende un compuesto de Fórmula  
 (I) a un sujeto, preferentemente un mamífero, que lo necesita.

En determinadas formas de realización, la presente invención proporciona un compuesto de Fórmula (I)  
 para su uso en un método de tratamiento de enfermedades asociadas con la función reducida de CFTR debida a  
 45 mutaciones en el gen que codifica el CFTR o factores ambientales (por ejemplo, humo). Estas enfermedades  
 incluyen la fibrosis quística, la bronquitis crónica, la bronquitis recurrente, la bronquitis aguda, la infertilidad  
 masculina debida a la ausencia bilateral congénita de los conductos deferentes (CBAVD), la infertilidad femenina  
 debida a la ausencia congénita del útero y la vagina (CAUV), la pancreatitis crónica idiopática (ICP), la pancreatitis  
 idiopática recurrente, la pancreatitis aguda idiopática, la rinosinusitis crónica, la colangitis esclerosante primaria, la  
 50 diabetes, el ojo seco, el estreñimiento, la aspergilosis broncopulmonar alérgica (ABPA), las enfermedades óseas  
 (por ejemplo, la osteoporosis) y el asma.

En determinadas formas de realización, la presente invención proporciona un método para tratar  
 enfermedades asociadas con la función normal de CFTR. Estas enfermedades incluyen la enfermedad pulmonar  
 55 obstructiva crónica (EPOC), la bronquitis crónica, la bronquitis recurrente, la bronquitis aguda, la rinosinusitis, el  
 estreñimiento, la pancreatitis, incluidas la pancreatitis crónica, la pancreatitis recurrente y la pancreatitis aguda, la  
 insuficiencia pancreática, la infertilidad masculina debida a la ausencia bilateral congénita de los conductos  
 deferentes (CBAVD), la enfermedad pulmonar leve, la pancreatitis idiopática, la enfermedad hepática, el enfisema  
 hereditario, los cálculos biliares, la enfermedad por reflujo gastroesofágico, las neoplasias gastrointestinales, la  
 60 enfermedad inflamatoria intestinal, el estreñimiento, la diabetes, la artritis, la osteoporosis y la osteopenia.

En determinadas formas de realización, la presente invención proporciona un compuesto de Fórmula (I)  
 para su uso en un método para tratar enfermedades asociadas con la función normal de CFTR, incluidas la  
 hemocromatosis hereditaria, las deficiencias de la coagulación-fibrinólisis, tal como la deficiencia de proteína C, el  
 65 angioedema hereditario de tipo 1, las deficiencias en el procesamiento de lípidos, tal como la hipercolesterolemia  
 familiar, la quilomicronemia de tipo 1, la abetalipoproteinemia, las enfermedades de depósito lisosomal, tal como la  
 enfermedad de células I/pseudo-Hurler, la mucopolisacaridosis, Sandhof/Tay-Sachs, Crigler-Najjar de tipo II, la

5 poliendoocrinopatía/hiperinsulinemia, la diabetes mellitus, el enanismo de Laron, la deficiencia de mieloperoxidasa, el hipoparatiroidismo primario, el melanoma, la glucanosis CDG de tipo 1, el hipertiroidismo congénito, la osteogénesis imperfecta, la hipofibrinogenemia hereditaria, la deficiencia de ACT, la diabetes insípida (DI), la DI neurohipofisaria, la DI nefrogénica, el síndrome de Charcot-Marie Tooth, la enfermedad de Pelizaeus-Merzbacher, enfermedades  
 10 neurodegenerativas tales como la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson, la esclerosis lateral amiotrófica, la parálisis supranuclear progresiva, la enfermedad de Pick, varios trastornos neurológicos de la poliglutamina tales como el Huntington, la ataxia espinocerebelosa de tipo I, la atrofia muscular espinal y bulbar, la atrofia dentatorubro palidoluisiana y la distrofia miotónica, así como encefalopatías espongiiformes, tales como la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob hereditaria (debida al defecto de procesamiento de proteínas priónicas), la  
 15 enfermedad de Fabry, el síndrome de Straüssler-Scheinker, el síndrome de Gorham, las canalopatías de cloruro, la miotonía congénita (formas Thomson y Becker), el síndrome de Bartter de tipo III, la enfermedad de Dent, la hiperekplexia, la epilepsia, la enfermedad de depósito lisosomal, el síndrome de Angelman, la discinesia ciliar primaria (DCP), la DCP con *situs inversus* (también conocida como síndrome de Kartagener), la DCP *sin situs inversus* y la aplasia ciliar o la enfermedad de Sjogren, que comprende la etapa de administrar a dicho mamífero una cantidad eficaz de una composición que comprende un compuesto de la presente invención.

Según una forma de realización preferente alternativa, la presente invención proporciona un compuesto de Fórmula (I) para su uso en un método de tratamiento de la fibrosis quística que comprende la etapa de administrar a dicho mamífero una composición que comprende la etapa de administrar a dicho mamífero una cantidad eficaz de una composición que comprende un compuesto de la presente invención.

Según la invención, una "cantidad eficaz" del compuesto o composición farmacéuticamente aceptable es aquella cantidad eficaz para tratar o reducir la gravedad de una o más de las enfermedades, trastornos o afecciones según lo expuesto anteriormente.

Los compuestos y composiciones, según el método de la presente invención, pueden administrarse utilizando cualquier cantidad y cualquier vía de administración eficaz para tratar o reducir la gravedad de una o más de las enfermedades, trastornos o afecciones según lo expuesto anteriormente.

Los compuestos y composiciones de la presente invención son útiles para tratar o reducir la gravedad de la fibrosis quística en pacientes que presentan actividad residual de CFTR en la membrana apical del epitelio respiratorio y no respiratorio. La presencia de la actividad residual de CFTR en la superficie epitelial puede detectarse fácilmente utilizando métodos conocidos en la técnica, por ejemplo, técnicas electrofisiológicas, bioquímicas o histoquímicas convencionales. Tales métodos identifican la actividad de CFTR utilizando técnicas electrofisiológicas *in vivo* o *ex vivo*, la medición de las concentraciones en sudor o en saliva de Cl<sup>-</sup> o técnicas bioquímicas o histoquímicas *ex vivo* para controlar la densidad de la superficie celular. Mediante tales métodos, puede detectarse fácilmente la actividad residual de CFTR en pacientes homocigóticos o heterocigóticos para diversas mutaciones diferentes, incluidos pacientes homocigóticos o heterocigóticos para la mutación más común, ΔF508.

Los compuestos y composiciones de la presente invención son útiles para tratar o reducir la gravedad de la fibrosis quística en pacientes que tienen actividad residual de CFTR inducida o aumentada utilizando métodos farmacológicos o terapia génica. Tales métodos aumentan la cantidad de CFTR presente en la superficie celular, induciendo así una actividad de CFTR hasta entonces ausente en un paciente o aumentando el nivel existente de actividad residual de CFTR en un paciente.

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

Los compuestos y composiciones de la presente invención son útiles para tratar o reducir la gravedad de la fibrosis quística en pacientes dentro de determinados fenotipos clínicos, por ejemplo, un fenotipo clínico de moderado a leve que por lo general se correlaciona con la cantidad de actividad residual de CFTR en la membrana apical de los epitelios. Estos fenotipos incluyen pacientes que presentan insuficiencia pancreática o pacientes con diagnóstico de pancreatitis idiopática y ausencia bilateral congénita de los conductos deferentes o enfermedad pulmonar leve.

La cantidad exacta necesaria variará de sujeto a sujeto, dependiendo de la especie, edad y estado general del sujeto, la gravedad de la infección, el agente concreto, su modo de administración, y similares. Los compuestos de la invención se formulan preferentemente en forma de dosificación unitaria para facilitar la administración y por cuestiones de uniformidad de la dosificación. La expresión "forma de dosificación unitaria" tal como se utiliza en el

presente documento, se refiere a una unidad físicamente discreta de agente apropiada para el paciente a tratar. Sin embargo, se entenderá que el uso diario total de los compuestos y composiciones de la presente invención lo decidirá el médico a cargo dentro del alcance del criterio médico. El nivel de dosis eficaz específico para cualquier paciente u organismo concreto dependerá de diversos factores, incluidos el trastorno a tratar y la gravedad del trastorno; la actividad del compuesto específico empleado; la composición específica empleada; la edad, el peso corporal, la salud general, el sexo y la dieta del paciente; el tiempo de administración, la vía de administración y la velocidad de excreción del compuesto específico empleado; la duración del tratamiento; los fármacos utilizados en combinación con o simultáneamente al compuesto específico empleado, y factores similares bien conocidos en las técnicas médicas. El término "paciente", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a un animal, preferentemente un mamífero, y lo más preferentemente un ser humano.

Las composiciones farmacéuticamente aceptables de la presente invención pueden administrarse a seres humanos y a otros animales por vía oral, rectal, parenteral, intracisternal, intravaginal, intraperitoneal, tópica (como mediante polvos, pomadas, gotas o parche), bucal, como aerosol oral o nasal o similares, dependiendo de la gravedad de la infección que se está tratando. En determinadas formas de realización, los compuestos de la invención pueden administrarse por vía oral o parenteral a niveles de dosificación de aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 50 mg/kg y preferentemente de aproximadamente 0,5 mg/kg a aproximadamente 25 mg/kg, de peso corporal del sujeto al día, una o más veces al día, para obtener el efecto terapéutico deseado.

Las formas de dosificación líquidas para la administración oral incluyen, pero no se limitan a, emulsiones, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Además de los compuestos activos, las formas de dosificación líquidas pueden contener diluyentes inertes comúnmente utilizados 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, dimetil formamida, aceites (en particular, aceites de semilla de algodón, cacahuete, maíz, germen, oliva, ricino y sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofurfurílico, polietilenglicoles y ésteres de ácidos grasos de sorbitán, y mezclas de los mismos. Además de los diluyentes inertes, las composiciones orales también pueden incluir adyuvantes tales como humectantes, emulsionantes y agentes de suspensión, edulcorantes, saporíferos y aromatizantes.

Pueden formularse preparaciones inyectables, por ejemplo, suspensiones oleaginosas o acuosas inyectables estériles según la técnica conocida utilizando dispersantes o humectantes y agentes de suspensión adecuados. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución, suspensión o emulsión inyectable estéril en un disolvente o diluyente parenteralmente aceptable no tóxico, por ejemplo, como solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden emplearse están el agua, la solución de Ringer, USP y la solución de cloruro de sodio isotónica. Además, como medio disolvente o de suspensión se emplean convencionalmente aceites no volátiles estériles. Con este fin puede emplearse cualquier aceite no volátil suave incluidos mono o diglicéridos sintéticos. Además, en la preparación de inyectables se utilizan ácidos grasos tales como el ácido oleico.

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

Con el fin de prolongar el efecto de un compuesto de la presente invención, a menudo es deseable ralentizar la absorción del compuesto a partir de la inyección subcutánea o intramuscular. Esto puede lograrse utilizando una suspensión líquida de material cristalino o amorfo con escasa solubilidad en agua. La velocidad de absorción del compuesto depende entonces de su velocidad de disolución que, a su vez, puede depender del tamaño del cristal y de la forma cristalina. Como alternativa, la absorción retardada de una forma de compuesto administrada parenteralmente se logra disolviendo o suspendiendo el compuesto en un vehículo oleoso. Las formas de liberación prolongada inyectables se elaboran formando matrices microencapsuladas del compuesto en polímeros biodegradables tales como polilactida-poliglicólido. Dependiendo de la relación entre compuesto y polímero y de la naturaleza del polímero concreto empleado, puede controlarse la velocidad de liberación del compuesto. Los ejemplos de otros polímeros biodegradables incluyen poli(ortoésteres) y poli(anhídridos). Las formulaciones inyectables de liberación prolongada también se preparan inmovilizando el compuesto en liposomas o microemulsiones que sean compatibles con los tejidos corporales.

Las composiciones para la administración rectal o vaginal son preferentemente supositorios que pueden prepararse mezclando los compuestos de la presente invención con excipientes o vehículos no irritantes adecuados tales como manteca de cacao, polietilenglicol o una cera de supositorio 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 sólidas para la administración oral incluyen cápsulas, comprimidos, píldoras, polvos y gránulos. En tales formas de dosificación sólidas, el compuesto activo se mezcla con al menos un excipiente o vehículo inerte farmacéuticamente aceptable tal como citrato de sodio 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 arábica, c) humectantes, tal como glicerol, d) agentes disgregantes tales como agar-agar, carbonato de calcio, almidón de patata o tapioca, ácido algínico, determinados silicatos, y carbonato sódico, e) agentes retardantes de la disolución, tal como parafina, f) aceleradores de la absorción tales como compuestos de amonio cuaternario, g) humectantes tales como, por ejemplo, alcohol cetílico y monoestearato 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, lauril sulfato de sodio, y mezclas de los mismos. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, la forma de dosificación también puede comprender amortiguadores del pH.

También pueden emplearse como cargas composiciones sólidas de tipo similar, en cápsulas de gelatina rellenas duras y blandas utilizando excipientes tales como lactosa o azúcar de la leche así como polietilenglicoles de alto peso molecular, y similares. Las formas de dosificación sólidas de comprimidos, grageas, cápsulas, píldoras y gránulos pueden prepararse con recubrimientos y cubiertas tales como recubrimientos entéricos y otros recubrimientos bien conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica. Pueden contener opcionalmente agentes opacificantes y también pueden ser de una composición tal que liberen el(los) principio(s) activo(s) solamente o preferentemente, en una determinada parte del tracto intestinal, opcionalmente, de manera retardada. Los ejemplos de composiciones de inclusión que pueden utilizarse incluyen sustancias poliméricas y ceras. También pueden emplearse como cargas composiciones sólidas de tipo similar, en cápsulas de gelatina rellenas blandas y duras utilizando 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 sólidas de comprimidos, grageas, cápsulas, píldoras y gránulos pueden prepararse con recubrimientos y cubiertas tales como recubrimientos entéricos, recubrimientos controladores de la liberación y otros recubrimientos bien conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica. En tales formas de dosificación sólidas el compuesto activo puede estar mezclado con al menos un diluyente inerte tal como sacarosa, lactosa o almidón. Tales formas de dosificación también pueden comprender, como es práctica normal, sustancias adicionales distintas de los diluyentes inertes, por ejemplo, lubricantes para formación de comprimidos y otros adyuvantes para formación de comprimidos tales como un estearato de magnesio y celulosa microcristalina. En el caso de las cápsulas, comprimidos y píldoras, las formas de dosificación también pueden comprender amortiguadores del pH. Pueden contener opcionalmente agentes opacificantes y también pueden ser de una composición tal que liberen el(los) principio(s) activo(s) solamente o preferentemente, en una determinada parte del tracto intestinal, opcionalmente, de manera retardada. Los ejemplos de composiciones de inclusión que pueden utilizarse incluyen sustancias poliméricas y ceras.

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, pulverizaciones, inhalantes o parches. El componente activo se mezcla en condiciones estériles con un vehículo farmacéuticamente aceptable y cualquier conservante o tampón necesario según sea necesario. También quedan contempladas dentro del alcance de la presente invención las formulaciones oftálmicas, las gotas para los oídos y las gotas para los ojos. Además, la presente invención contempla el uso de parches transdérmicos, que tienen la ventaja añadida de proporcionar la administración controlada al cuerpo de un compuesto. Tales formas de dosificación se preparan disolviendo o dispensando el compuesto en el medio apropiado. También pueden utilizarse potenciadores de la absorción para aumentar el flujo del compuesto a través de la piel. La velocidad puede controlarse proporcionando una membrana de control de la velocidad o dispersando el compuesto en un gel o matriz polimérica.

La actividad de un compuesto utilizado en la presente invención como modulador de CFTR puede ensayarse según los métodos descritos generalmente en la técnica y en los Ejemplos del presente documento.

También se comprenderá que los compuestos y composiciones farmacéuticamente aceptables de la presente invención pueden emplearse en terapias de combinación, es decir, los compuestos y composiciones farmacéuticamente aceptables pueden administrarse simultáneamente a, antes de o posteriormente a, uno o más de otros agentes terapéuticos o procedimientos médicos deseados. La combinación particular de terapias (agentes terapéuticos o procedimientos) a emplear en un régimen de combinación tendrá en cuenta la compatibilidad de los agentes terapéuticos y/o procedimientos deseados y el efecto terapéutico deseado a conseguir. También se comprenderá que las terapias empleadas pueden conseguir un efecto deseado para el mismo trastorno (por ejemplo, un compuesto de la invención puede administrarse simultáneamente a otro agente utilizado para tratar el mismo trastorno) o pueden conseguir diferentes efectos (por ejemplo, control de cualquier efecto adverso). Tal como se utilizan en el presente documento, los agentes terapéuticos adicionales que se administran normalmente para tratar o prevenir una enfermedad o afección concreta, son conocidos como "apropiados para la enfermedad o afección que se está tratando".

En una forma de realización, el agente adicional está seleccionado de entre un mucolítico, un broncodilatador, un antibiótico, un antiinfeccioso, un antiinflamatorio, un modulador de CFTR distinto de un

compuesto de la presente invención o un agente nutricional. En una forma de realización adicional, el agente adicional es un modulador de CFTR distinto de un compuesto de la presente invención.

En una forma de realización, el agente adicional es un antibiótico. Los antibióticos ejemplares útiles en el presente documento incluyen tobramicina, incluida tobramicina inhalada en polvo (TIP), azitromicina, aztreonam, incluida la forma de aerosol de aztreonam, amikacina, incluidas formulaciones liposomales de la misma, ciprofloxacina, incluidas formulaciones de la misma adecuadas para la administración por inhalación, levofloxacino, incluidas formulaciones del mismo en aerosol y combinaciones de dos antibióticos, por ejemplo, fosfomicina y tobramicina.

En otra forma de realización, el agente adicional es un mucolítico. Los mucolíticos ejemplares útiles en el presente documento incluye Pulmozyme®.

En otra forma de realización, el agente adicional es un broncodilatador. Los broncodilatadores ejemplares incluyen albuterol, sulfato de metaprotenerol, acetato de pirbuterol, salmeterol o sulfato de terbutalina.

En otra forma de realización, el agente adicional es eficaz en la restauración del líquido de la superficie de las vías respiratorias del pulmón. Tales agentes mejoran el movimiento de la sal en y fuera de las células, permitiendo que el moco en las vías respiratorias del pulmón esté más hidratado y, por lo tanto, se elimine con más facilidad. Tales agentes ejemplares incluyen solución salina hipertónica, denufosal tetrasódico (hidrogenofosfato de [[[3S,5R)-5-(4-amino-2-oxopirimidin-1-il)-3-hidroxióxolan-2-il]metoxi-hidroxi-fosforil](((2R,3S,4R,5R)-5-(2,4-dioxopirimidin-1-il)-3,4-dihidroxióxolan-2-il]metoxi-hidroxi-fosforil]oxihidroxi-fosforilo)) o bronquitol (formulación inhalada de manitol).

En otra forma de realización, el agente adicional es un antiinflamatorio, es decir, un agente que puede reducir la inflamación en los pulmones. Tales agentes ejemplares útiles en la presente invención incluyen ibuprofeno, ácido docosahexanoico (DHA), sildenafilo, glutatión es inhalado, pioglitazona, hidroxiclo-roquina o simvastatina.

En otra forma de realización, el agente adicional reduce la actividad del bloqueador del canal de sodio epitelial (ENaC) ya sea directamente bloqueando el canal o indirectamente mediante la modulación de las proteasas que conducen a un aumento en la actividad del ENaC (por ejemplo, serin proteasas, proteasas activadoras de canal). Tales agentes ejemplares incluyen camostat (un inhibidor de la proteasa de tipo tripsina), QAU145, 552-02, GS-9411, INO-4995, Aerolytic y amilorida. Pueden encontrarse agentes adicionales que reducen la actividad del bloqueador de canal de sodio epitelial (ENaC), por ejemplo en la publicación PCT N° WO2009/074575.

Entre otras enfermedades descritas en el presente documento, se utilizan combinaciones de moduladores de CFTR, tal como el compuesto de Fórmula I, y agentes que reducen la actividad del ENaC para tratar el síndrome de Liddle, una afección inflamatoria o alérgica incluidas la fibrosis quística, la discinesia ciliar primaria, la bronquitis crónica, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, el asma, las infecciones del tracto respiratorio, el carcinoma pulmonar, la xerostomía y la queratoconjuntivitis seca, las infecciones del tracto respiratorio (agudas y crónicas; víricas y bacterianas) y el carcinoma de pulmón.

Las combinaciones de moduladores de CFTR, tal como el compuesto de Fórmula I, y agentes que reducen la actividad del ENaC también son útiles para tratar enfermedades mediadas por el bloqueo del canal de sodio epitelial también incluyen enfermedades distintas de las enfermedades respiratorias que se asocian con la regulación anómala de líquido a través de un epitelio, que tal vez implica una fisiología anómala de los líquidos protectores de superficie en su superficie, por ejemplo, la xerostomía (boca seca) o la queratoconjuntivitis seca (ojo seco). Además, el bloqueo del canal de sodio epitelial en el riñón podría utilizarse para promover la diuresis y de esa manera inducir un efecto hipotensor.

El asma incluye el asma intrínseca (no alérgica) y extrínseca (alérgica), el asma leve, el asma moderada, el asma grave, el asma bronquial, el asma inducida por el ejercicio, el asma ocupacional y el asma inducida después de una infección bacteriana. Debe entenderse también que el tratamiento del asma abarca el tratamiento de sujetos, por ejemplo, de menos de 4 ó 5 años de edad, que presentan síntomas de sibilancias y que están diagnosticados o pueden diagnosticarse como "niños sibilantes", una categoría establecida de pacientes de gran preocupación médica y en la actualidad identificada con frecuencia como asmáticos incipientes o de fase temprana. (Por comodidad, esta afección asmática concreta se conoce como "síndrome del niño sibilante".) La eficacia profiláctica en el tratamiento del asma quedará demostrada por la reducción de la frecuencia o gravedad del ataque sintomático, por ejemplo, de ataque asmático o broncoconstrictor agudo, la mejora de la función del pulmón o la hiperreactividad mejorada de las vías respiratorias. Puede quedar demostrada adicionalmente por una necesidad reducida de otro tratamiento sintomático, es decir, tratamiento para o destinado a restringir o anular el ataque sintomático cuando se produce, por ejemplo, antiinflamatorio (por ejemplo, corticosteroides) o broncodilatador. En particular, el beneficio profiláctico en el asma puede resultar evidente en sujetos propensos a "depresión matutina". La "depresión matutina" es un síndrome asmático reconocido, común a un porcentaje considerable de asmáticos y caracterizado por el ataque de asma, por ejemplo, entre las 4 a.m.-6 a.m., es decir, en un momento normalmente substancialmente distante de cualquier tratamiento para el asma sintomática administrado anteriormente.

La enfermedad pulmonar obstructiva crónica incluye bronquitis crónica o disnea asociada con la misma, enfisema, así como empeoramiento de la hiperreactividad de las vías respiratorias como consecuencia de otro tratamiento farmacológico, en particular, otro tratamiento farmacológico inhalado. En algunas formas de realización, las combinaciones de moduladores de CFTR, tales como los compuestos de Fórmula I, y agentes que reducen la actividad del ENaC son útiles para tratar la bronquitis de cualquier tipo o génesis incluidas, por ejemplo, la bronquitis aguda, araquídica, catarral, cruposa, crónica o tuberculosa.

En otra forma de realización, el agente adicional es un modulador de CFTR distinto de un compuesto de Fórmula I, es decir, un agente que tiene el efecto de modular la actividad de CFTR. Tales agentes ejemplares incluyen ataluren ("PTC124®"; ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]benzoico), sinapultida, lancovutida, depelestat (un inhibidor de la elastasa de neutrófilos recombinante humana), cobiprostona (ácido 7-{{(2R,4aR,5R,7aR)-2-[(3S)-1,1-difluoro-3-metilpentil]-2-hidroxi-6-oxooctahidrociclopenta[b]piran-5-il}heptanoico) o ácido (3-(6-(1-{2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il) benzoico. En otra forma de realización, el agente adicional es ácido (3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)benzoico.

En otra forma de realización, el agente adicional es un agente nutricional. Tales agentes ejemplares incluyen pancrelipasa (reemplazo de enzimas pancreáticas), incluidos Pancrease®, Pancreacarb®, Ultrase® o Creon®, Liprotomase® (anteriormente Trizyte®), Aquadeks® o inhalación de glutatión. En una forma de realización, el agente nutricional adicional se la pancrelipasa.

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 descritas en el presente documento variará entre aproximadamente el 50% y el 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 pueden incorporarse en composiciones para recubrir un dispositivo médico implantable, tales como prótesis, válvulas artificiales, injertos vasculares, estents y catéteres. Por consiguiente, la presente invención, en otro aspecto, incluye una composición para recubrir un dispositivo implantable que comprende un compuesto de la presente invención tal como se ha descrito en general anteriormente, y en clases y subclases en el presente documento, y un vehículo adecuado para recubrir dicho dispositivo implantable. En aún otro aspecto, la presente invención incluye un dispositivo implantable recubierto con una composición que comprende un compuesto de la presente invención tal como se ha descrito en general anteriormente, y en clases y subclases en el presente documento, y un vehículo adecuado para recubrir dicho dispositivo implantable. Los recubrimientos adecuados y la preparación general de dispositivos implantables recubiertos se describen en las patentes de EE.UU. 6.099.562, 5.886.026 y 5.304.121. Los recubrimientos son por lo general materiales poliméricos biocompatibles tales como un polímero de hidrogel, polimetilidisiloxano, policaprolactona, polietilenglicol, ácido poliláctico, etileno-acetato de vinilo, y mezclas de los mismos. Los recubrimientos pueden estar opcionalmente cubiertos adicionalmente por una capa superior adecuada de fluorosilicona, polisacáridos, polietilenglicol, fosfolípidos o combinaciones de los mismos para conferir características de liberación controlada en la composición.

Otro aspecto de la invención se refiere a modular la actividad de CFTR 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 una composición que comprende dicho compuesto. La expresión "muestra biológica", tal como se utiliza en el presente documento, incluye, sin limitación, cultivos celulares o extractos de los mismos; material de biopsia obtenido de un mamífero o extractos del mismo; y sangre, saliva, orina, heces, semen, lágrimas u otros líquidos corporales o extractos de los mismos.

La modulación de CFTR en una muestra biológica es útil para diversos fines conocidos para un experto en la materia. Los ejemplos de tales fines incluyen, pero no se limitan, al estudio de CFTR en fenómenos biológicos y patológicos, y a la evaluación comparativa de nuevos moduladores de CFTR.

En otra forma de realización, se proporciona un método de modulación de la actividad 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 formas de realización preferentes, el canal de aniones es un canal de cloruro o un canal de bicarbonato. En otras formas de realización preferentes, el canal de aniones es un canal de cloruro.

Según una forma de realización alternativa, la presente invención proporciona un método para aumentar el número de CFTR funcionales en una membrana de una célula, que comprende la etapa de poner en contacto dicha célula con un compuesto de Fórmula (I).

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

El ensayo óptico de potencial de membrana utiliza sensores FRET sensibles al voltaje descritos por González y Tsien (véase, González, J.E. y R.Y. Tsien (1995) "Voltage sensing by fluorescence resonance energy transfer in single cells", *Biophys J* 69 (4): 1272-1280, y González, 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 cambios de fluorescencia tal como el lector Voltage/Ion Probe Reader (VIPR) (Véase, González, J.E., K. Oades, *et al.* (1999) "Cell-based assays and instrumentation for screening ion-channel targets", *Drug Discov Today* 4(9): 431 -439).

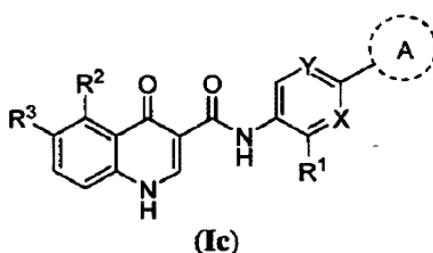
Estos ensayos sensibles al voltaje se basan en el cambio de la transferencia de energía por resonancia de fluorescencia (FRET) entre el colorante sensible al voltaje soluble en la membrana, DiSBAC<sub>2</sub>(3) y un fosfolípido fluorescente, CC2-DMPE, que se fija a la cara externa de la membrana plasmática y actúa como donante de FRET. Los cambios en el potencial de membrana ( $V_m$ ) hacen que el DiSBAC<sub>2</sub>(3) cargado negativamente se redistribuya a través de la membrana plasmática y que por consiguiente cambie la cantidad de transferencia de energía desde CC2-DMPE. Los cambios en la emisión de fluorescencia puede controlarse utilizando VIPR™ II, que es un manipulador de líquidos y detector fluorescente integrado diseñado para realizar cribados celulares en placas de microtitulación de 96 ó 384 pocillos.

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

A fin de que la invención descrita en el presente documento pueda entenderse más plenamente, se exponen los siguientes ejemplos. Debe entenderse que estos ejemplos tienen sólo fines ilustrativos y no deben interpretarse como limitativos de la presente invención en modo alguno.

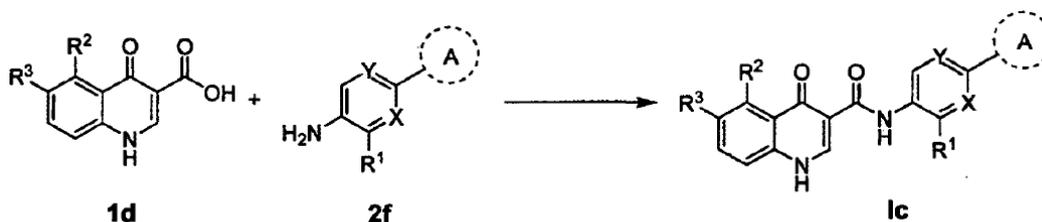
#### Procesos y productos intermedios para preparar compuestos de Fórmula I

Otro aspecto de la invención se refiere a un proceso para preparar un compuesto de Fórmula (Ic):



o sales farmacéuticamente aceptables del mismo, en el que el proceso comprende:

(a) hacer reaccionar el ácido de fórmula **1d** con una amina de fórmula **2d** para proporcionar un compuesto de Fórmula (Ic)

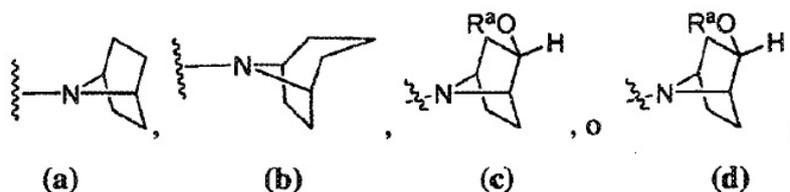


en el que:

el anillo A está seleccionado de entre:

5

10



15

en el que:

20

$R^1$  es  $-CH_3$ ,  $-CF_3$  o  $-CN$ ;  
 $R^2$  es hidrógeno,  $-CH_3$ ,  $-CF_3$ ,  $-OH$  o  $-CH_2OH$ ;  
 $R^3$  es hidrógeno,  $-CH_3$ ,  $-OCH_3$  o  $-CN$ ;

siempre que  $R^2$  y  $R^3$  no sean simultáneamente hidrógeno, y

25

$R^a$  es hidrógeno o un grupo protector de sililo seleccionado del grupo que consiste en trimetilsililo (TMS), *tert*-butildifenilsililo (TBDPS), *tert*-butildimetilsililo (TBDMS), trisopropilsililo (TIPS) y [2-(trimetilsilil)etoxi]metilo (SEM); y uno entre X e Y es nitrógeno y el otro es carbono.

30

En una forma de realización, la reacción del ácido de fórmula **1d** con la amina de fórmula **2c** se produce en un disolvente en presencia de hexafluorofosfato de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio (HATU) y trietilamina o en un disolvente en presencia de anhídrido cíclico del ácido propil fosfónico (T3P®) y piridina. Más concretamente, el disolvente comprende *N,N*-dimetil formamida, acetato de etilo o 2-metiltetrahidrofurano.

35

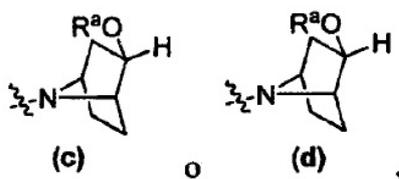
En otra forma de realización,  $R^a$  es hidrógeno o TBDMS.

En otra forma de realización,  $R^a$  es TBDMS.

40

En otra forma de realización, el proceso comprende una etapa de desprotección adicional; por ejemplo, cuando el anillo A es

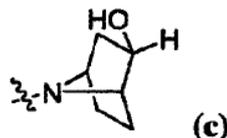
45



50

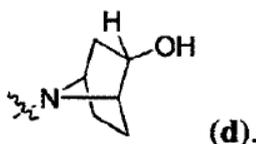
en el que  $R^a$  es un grupo protector de sililo, para generar un compuesto de Fórmula I, en el que el anillo A es

55



o

60



65

Por lo general, la eliminación de un grupo protector de sililo requiere tratamiento con un ácido tal como ácido acético o un ácido mineral diluido o similar, aunque pueden utilizarse otros reactivos, tales como una fuente de ion fluoruro (por ejemplo, fluoruro de tetrabutilamonio).

5 En el proceso, la amina de fórmula **2c** se prepara a partir de un compuesto de fórmula **2a** comprende las etapas de:

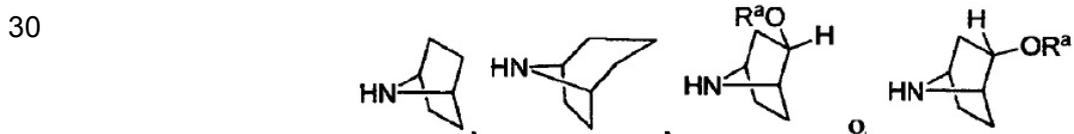
10 (a) hacer reaccionar el compuesto de fórmula **2a** con una amina de fórmula **3** para proporcionar el compuesto de fórmula **2b**



en el que:

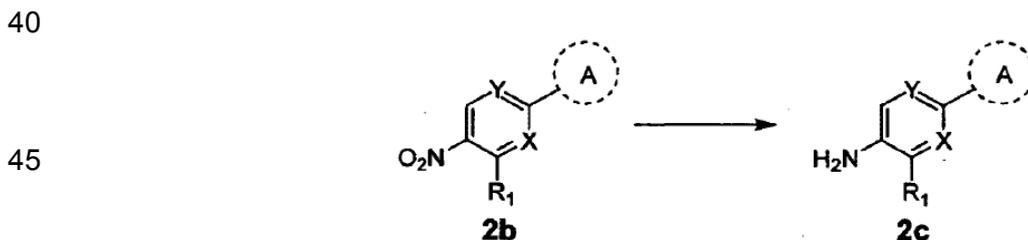
25 Hal es F, Cl, Br o I; y

la amina de fórmula 3 es



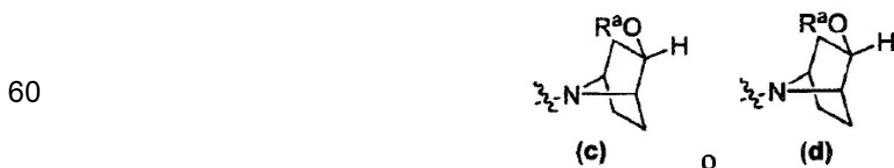
35 y

(b) reducir el compuesto de fórmula **2b** a la amina de fórmula **2c**.



50 En una forma de realización del proceso para preparar la amina de fórmula **2c**, la amina de fórmula **3** de la etapa (a) se genera *in situ* a partir de la sal de amonio cuaternario correspondiente, tal como una sal clorhidrato de amina, aunque también pueden utilizarse otras sales de amonio (por ejemplo, la sal de trifluoroacetato).

55 3 es



65 R<sup>a</sup> es hidrógeno o TBDMS. Más concretamente, R<sup>a</sup> es TBDMS.

En otra forma de realización, la etapa (a) se produce en un disolvente aprótico polar en presencia de una base amina terciaria. Los ejemplos de disolventes que pueden emplearse incluyen N,N-dimetil formamida, dimetilsulfóxido o acetonitrilo. Los ejemplos de aminas terciarias que pueden emplearse incluyen trietilamina, diisopropiletilamina, 1,5-diazabicyclo[4.3.0]non-5-eno (DBN), 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU), 1,4-diazabicyclo[2.2.2]octano (DABCO) y piridina.

En una forma de realización, la base amina terciaria es trietilamina.

En otra forma de realización, la etapa (a) se produce en acetonitrilo en presencia de trietilamina.

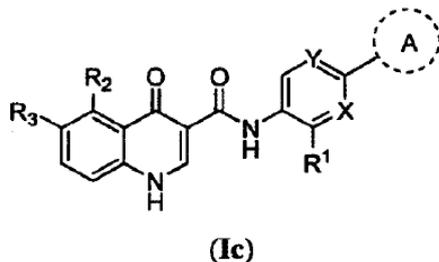
En otra forma de realización, la temperatura de reacción de la etapa (a) es de entre aproximadamente 75°C y aproximadamente 85°C.

En otra forma de realización, el tiempo de reacción para la etapa (a) es de entre aproximadamente 2 horas y aproximadamente 30 horas.

En una forma de realización del proceso para preparar la amina de fórmula 2c, la etapa (b) se produce en un disolvente prótico polar o una mezcla de disolventes próticos polares en presencia de un catalizador de paladio. Cuando el catalizador es paladio, el disolvente de la etapa (b) es por lo general un disolvente prótico polar tal como un alcohol. Más concretamente, el disolvente comprende metanol o etanol.

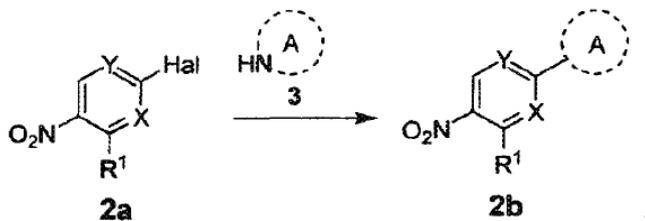
En otra forma de realización, la etapa (b) se produce en un disolvente prótico polar, tal como agua, en presencia de Fe y Zn y FeSO<sub>4</sub> o AcOH.

Otro aspecto de la invención se refiere a un proceso para preparar un compuesto de Fórmula 1c:

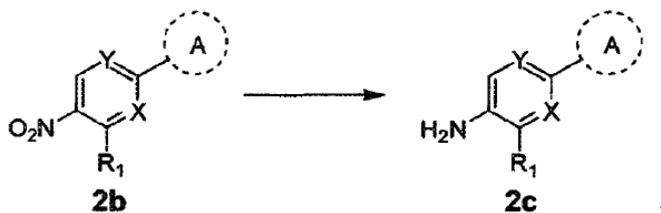


o sales farmacéuticamente aceptables del mismo, que comprende las etapas de:

(a) hacer reaccionar un compuesto de fórmula 2a con una amina de fórmula 3 para proporcionar un compuesto de fórmula 2b

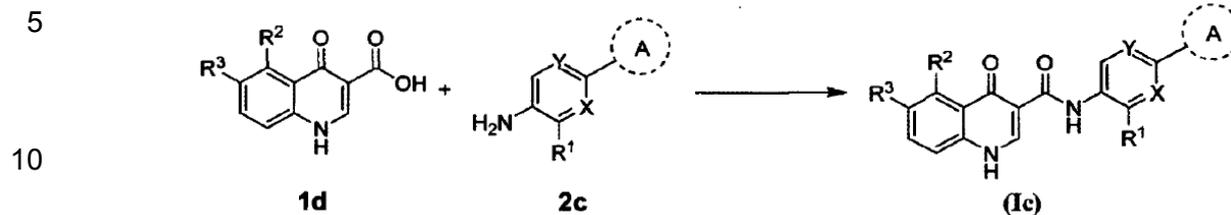


(b) convertir el compuesto de fórmula 2b en la amina de fórmula 2c mediante hidrogenación



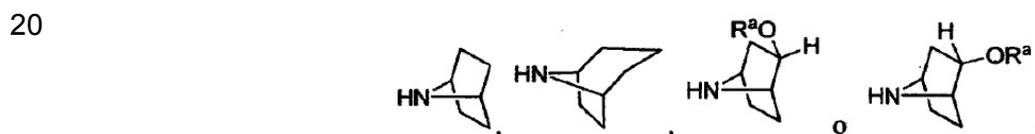
y

(c) hacer reaccionar la amina de fórmula **2c** con un ácido de fórmula **1d** para proporcionar un compuesto de Fórmula I



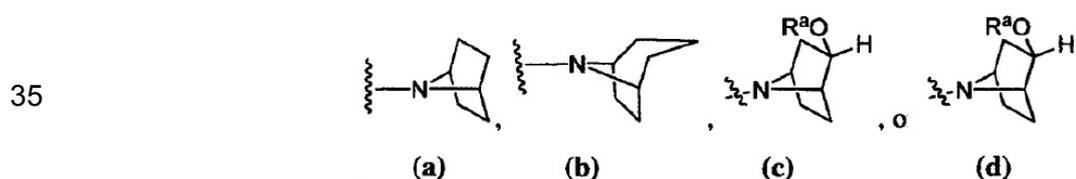
15 en la que Hal es F, Cl, Br o I;

la amina de fórmula 3 es



y

el anillo A está seleccionado de entre:



en el que:

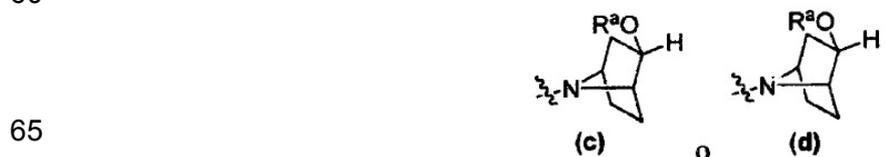
45  $R^1$  es  $-CH_3$ ,  $-CF_3$  o  $-CN$ ;  
 $R^2$  es hidrógeno,  $-CH_3$ ,  $-CF_3$ ,  $-OH$  o  $-CH_2OH$ ;  
 $R^3$  es hidrógeno,  $-CH_3$ ,  $-OCH_3$  o  $-CN$ ;  
 siempre que  $R^2$  y  $R^3$  no sean simultáneamente hidrógeno;

50  $R^a$  es hidrógeno o un grupo protector de sililo seleccionado del grupo que consiste en trimetilsililo (TMS), *tert*-butildifenilsililo (TBDPS), *tert*-butildimetilsililo (TBDMS), triisopropilsililo (TIPS) y [2-(trimetilsilil)etoxi]metilo (SEM); y

uno entre X e Y es nitrógeno y el otro es carbono.

55 En una forma de realización, la amina de fórmula **3** de la etapa (a) se genera *in situ* a partir de la sal de amonio cuaternario correspondiente, tal como una sal clorhidrato de amina, aunque también pueden utilizarse otras sales de amonio (por ejemplo la sal de trifluoroacetato).

60 En una forma de realización de la etapa (a) para formar la amina de fórmula **2c**, cuando la amina de fórmula **3** es



R<sup>a</sup> es hidrógeno o TBDMS. Más concretamente, R<sup>a</sup> es TBDMS.

5 En otra forma de realización, la etapa (a) se produce en un disolvente aprótico polar en presencia de una base amina terciaria. Los ejemplos de disolventes que pueden emplearse incluyen N,N-dimetil formamida, dimetilsulfóxido o acetonitrilo. Los ejemplos de aminas terciarias que pueden emplearse incluyen trietilamina, diisopropiletilamina, 1,5-diazabicyclo[4.3.0]non-5-eno (DBN), 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU), 1,4-diazabicyclo[2.2.2]octano (DABCO) y piridina.

10 En una forma de realización, la base amina terciaria es trietilamina.

En otra forma de realización, la etapa (a) se produce en acetonitrilo en presencia de trietilamina.

15 En otra forma de realización, la temperatura de reacción de la etapa (a) es de entre aproximadamente 75°C y aproximadamente 85°C.

En otra forma de realización, el tiempo de reacción para la etapa (a) es de entre aproximadamente 2 horas y aproximadamente 30 horas.

20 En una forma de realización del proceso para preparar la amina de fórmula **2c**, la etapa (b) se produce en un disolvente prótico polar o una mezcla de disolventes próticos polares en presencia de un catalizador de paladio. Cuando el catalizador es paladio, el disolvente de la etapa (b) es por lo general un disolvente prótico polar tal como un alcohol. Más concretamente, comprende metanol o etanol.

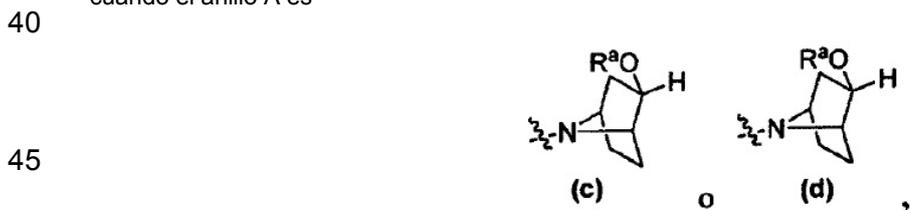
25 En otra forma de realización, la etapa (b) se produce en un disolvente prótico polar, tal como agua, en presencia de Fe y Zn y FeSO<sub>4</sub> o AcOH.

30 En una forma de realización de la etapa (c), la reacción del ácido de fórmula **1d** con la amina de fórmula **2c** se produce en un disolvente en presencia de hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio (HATU) y trietilamina o en un disolvente en presencia de anhídrido cíclico del ácido propil fosfónico (T3P®) y piridina. Más concretamente, el disolvente comprende N,N-dimetil formamida, acetato de etilo o 2-metiltetrahidrofurano.

35 En otra forma de realización, R<sup>a</sup> es hidrógeno o TBDMS.

En otra forma de realización, R<sup>a</sup> es TBDMS.

40 En otra forma de realización, el proceso comprende una etapa de desprotección adicional; por ejemplo, cuando el anillo A es



50 en el que R<sup>a</sup> es un grupo protector de sililo, para generar un compuesto de Fórmula I, en el que el anillo A es



o

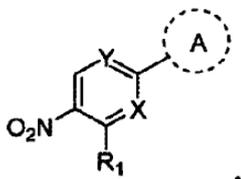


65

Por lo general, la eliminación de un grupo protector de sililo requiere tratamiento con un ácido tal como ácido acético o un ácido mineral diluido o similar, aunque pueden utilizarse otros reactivos, tal como una fuente de ion fluoruro (por ejemplo, fluoruro de tetrabutilamonio).

5 Otro aspecto de la invención se refiere a un compuesto que es

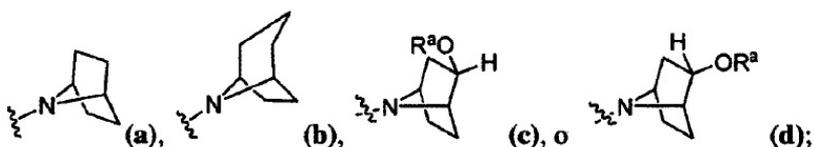
10



15

en el que el anillo A es

20



25

en el que

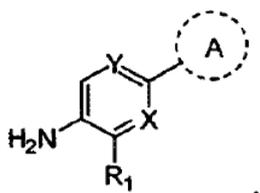
R<sup>1</sup> es -CH<sub>3</sub>, -CF<sub>3</sub> o -CN,

R<sup>a</sup> es hidrógeno o un grupo protector de sililo seleccionado del grupo que consiste en trimetilsililo (TMS), *tert*-butildifenilsililo (TBDPS), *tert*-butildimetilsililo (TBDMS), triisopropilsililo (TIPS) y [2-(trimetilsilil)etoxi]metilo (SEM); y uno entre X e Y es nitrógeno y el otro es carbono.

30

Otro aspecto de la invención se refiere a un compuesto que es

35

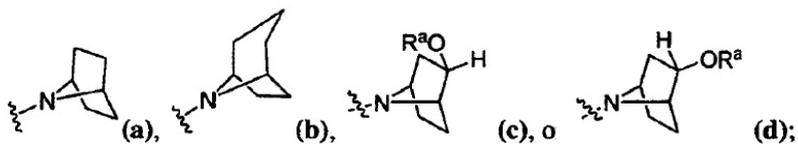


40

en el que el anillo A es

45

50



55

en el que

R<sup>1</sup> es -CH<sub>3</sub>, -CF<sub>3</sub> o -CN,

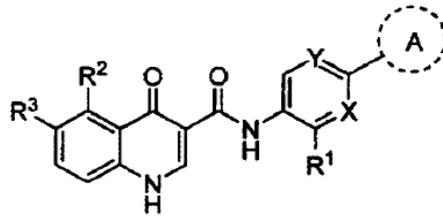
R<sup>a</sup> es hidrógeno o un grupo protector de sililo seleccionado del grupo que consiste en trimetilsililo (TMS), *tert*-butildifenilsililo (TBDPS), *tert*-butildimetilsililo (TBDMS), triisopropilsililo (TIPS) y [2-(trimetilsilil)etoxi]metilo (SEM); y uno entre X e Y es nitrógeno y el otro es carbono.

60

Otro aspecto de la invención se refiere a un compuesto de Fórmula Ic:

65

5



10

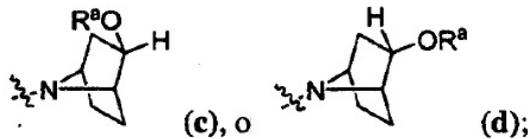
(Ic);

o sales farmacéuticamente aceptables del mismo, en la que:

15

el anillo A está seleccionado de entre

20



25

en el que

30

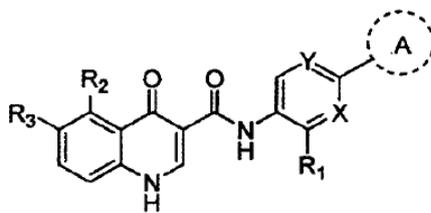
R<sup>1</sup> es -CH<sub>3</sub>, -CF<sub>3</sub> o -CN;  
 R<sup>2</sup> es hidrógeno, -CH<sub>3</sub>, -CF<sub>3</sub>, -OH o -CH<sub>2</sub>OH;  
 R<sup>3</sup> es hidrógeno, -CH<sub>3</sub>, -OCH<sub>3</sub> o -CN;  
 siempre que R<sup>2</sup> y R<sup>3</sup> no sean simultáneamente hidrógeno, y

R<sup>3</sup> es un grupo protector de sililo seleccionado del grupo que consiste en trimetilsililo (TMS), *tert*-butildifenilsililo (TBDPS), *tert*-butildimetilsililo (TBDMS) y triisopropilsililo (TIPS) y [2-(trimetilsilil)etoxi]metilo (SEM); y uno entre X e Y es nitrógeno y el otro es carbono.

35

Otro aspecto de la invención se refiere a un compuesto de Fórmula I

40



45

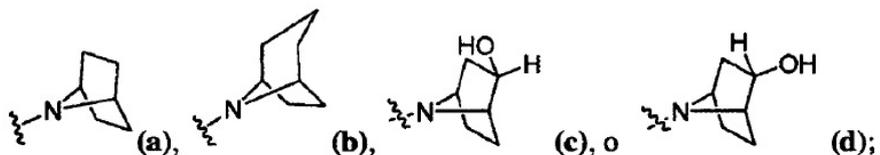
(I);

o sales farmacéuticamente aceptables del mismo, en la que:

50

el anillo A está seleccionado de entre:

55



60

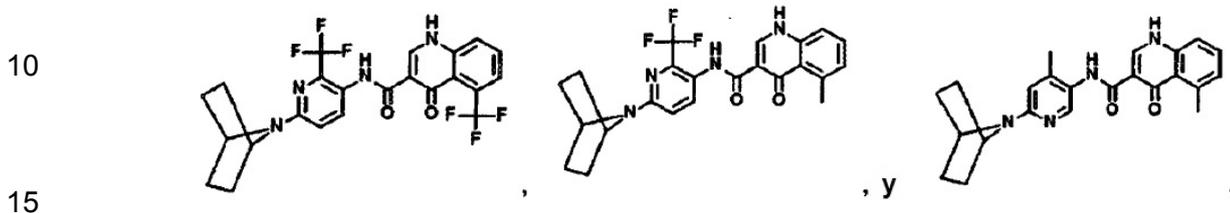
en el que

65

R<sup>1</sup> es -CH<sub>3</sub>, -CF<sub>3</sub> o -CN;  
 R<sup>2</sup> es hidrógeno, -CH<sub>3</sub>, -CF<sub>3</sub>, -OH o -CH<sub>2</sub>OH;  
 R<sup>3</sup> es hidrógeno, -CH<sub>3</sub>, -OCH<sub>3</sub> o -CN;

y  
 uno entre X e Y es nitrógeno y el otro es carbono;  
 preparado mediante cualquiera de los procesos descritos en el presente documento.

5 Otro aspecto de la invención se refiere a un compuesto seleccionado del grupo que consiste en:



preparado mediante cualquiera de los procesos descritos en el presente documento.

20 *Esquemas generales de síntesis*

Los Esquemas 1-3 ilustran la síntesis de los compuestos de Fórmula (I) de la presente invención.

25

30

35

40

45

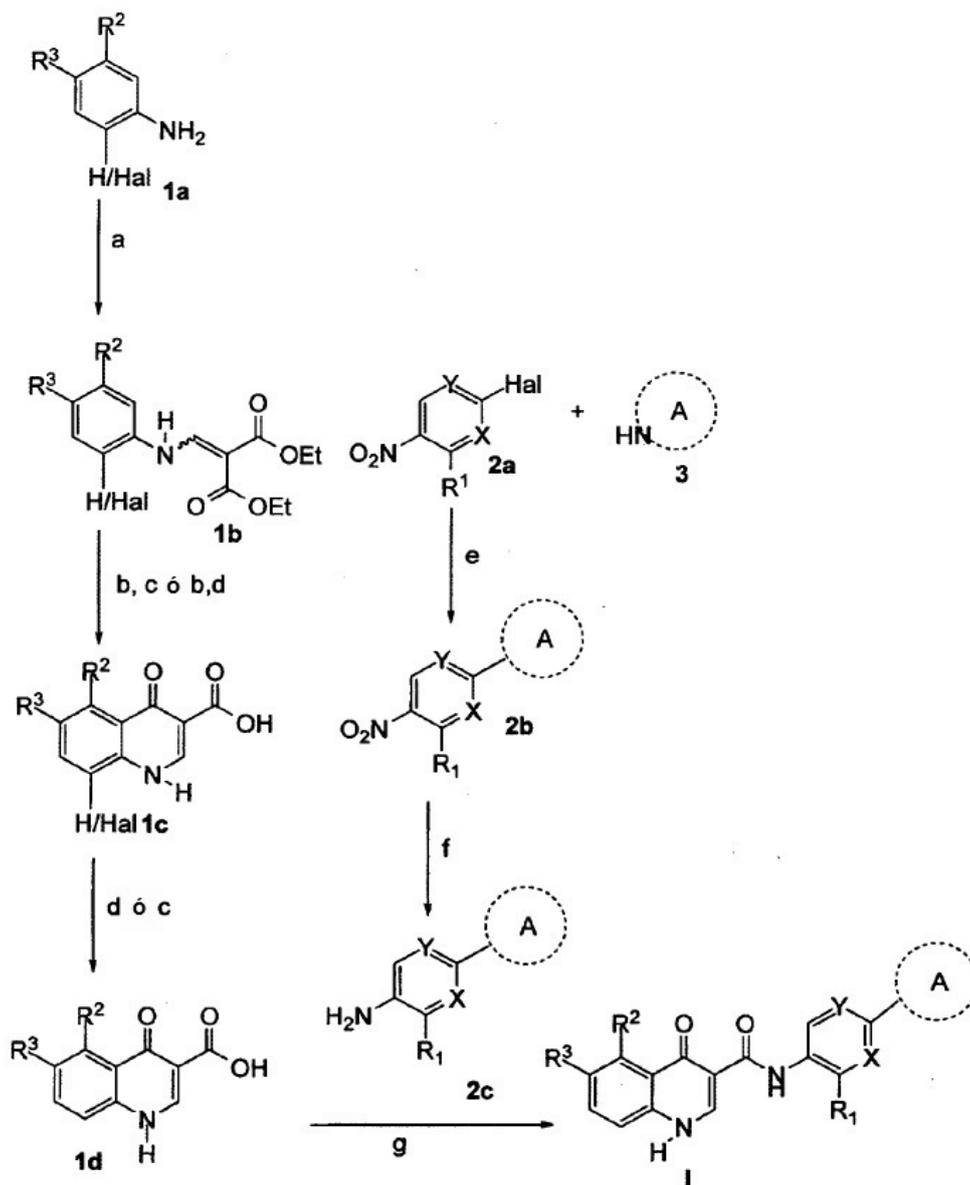
50

55

60

65

Esquema 1

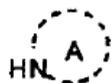


a)  $(\text{CO}_2\text{Et})_2\text{CH}=\text{CH}(\text{OEt})$ , tolueno, calor; (b) Dowtherm o éter difenilico, reflujo, atmósfera de  $\text{N}_2$ ;  
 c) Eliminación del grupo bloqueante halógeno, si está presente (por ejemplo,  $-\text{Cl}$ ),  $\text{Pd/C}$ ,  $\text{H}_2$ ,  $\text{EtOH}$ ; d)  $\text{NaOH}$ ; e)  $\text{CH}_3\text{CN}$ ,  $\text{Et}_3\text{N}$ , calor; f)  $\text{Pd/C}$ ,  $\text{H}_2$ ,  $\text{EtOH}$ ; g) HATU,  $\text{Et}_3\text{N}$ , DMF o anhídrido cíclico del ácido propil fosfónico (T3P®), piridina, 2-metiltetrahidrofurano.

El Esquema 1 representa un enfoque convergente para la preparación de compuestos de Fórmula (I) a partir de **1a** y **2a**. En la transformación final, la formación de amida mediante acoplamiento del ácido carboxílico **1d** con la amina **2c** para dar un compuesto de Fórmula (I) puede conseguirse utilizando hexafluorofosfato de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio (HATU) y trietilamina en *N,N*-dimetil formamida (DMF) o anhídrido cíclico del ácido propil fosfónico (T3P®) y piridina en 2-metiltetrahidrofurano. El ácido carboxílico **1d** se prepara a partir del correspondiente derivado de benceno sustituido **1a** a través de una secuencia que comienza con la condensación mediada por calor de **1a** con un malonato apropiado  $(\text{CO}_2\text{R})_2\text{CH}=\text{CH}(\text{OR})$ , en el que R es un grupo alquilo, tal como metilo, etilo o similares, para proporcionar **1b**.

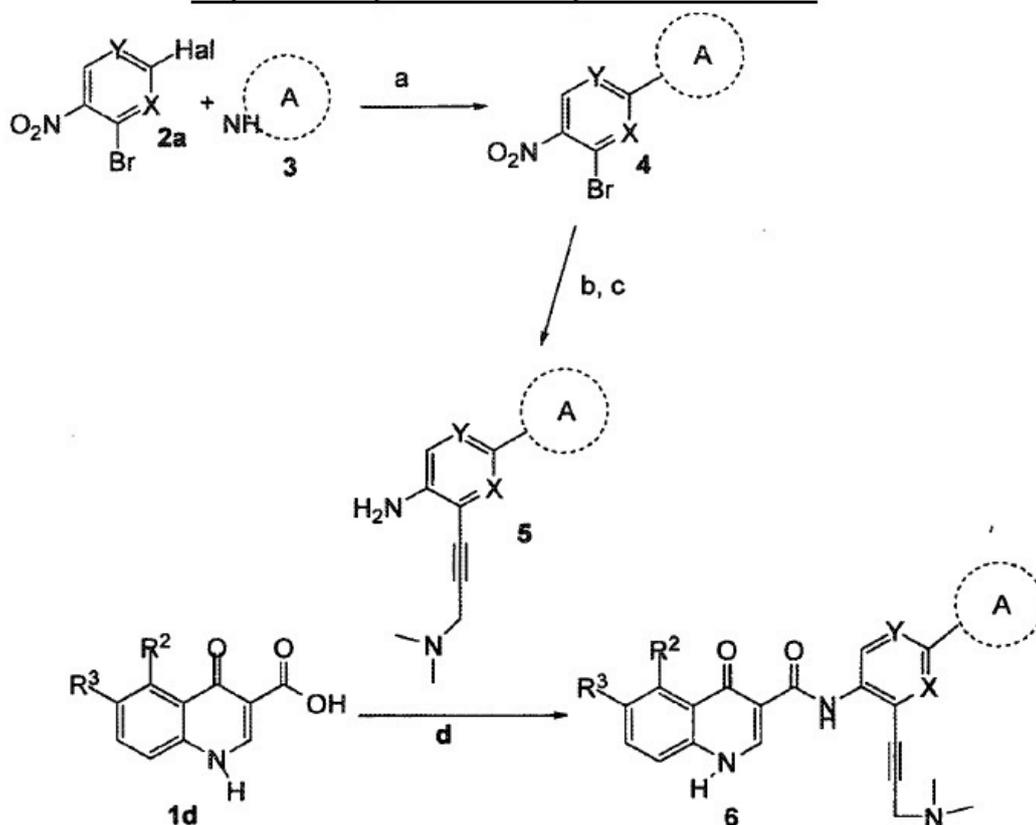
El Compuesto **1b** se convierte en el ácido carboxílico **1d** a través de una secuencia de tres etapas que incluye la ciclación intramolecular tras calentamiento a reflujo en Dowtherm o éter difenílico (etapa b), seguido de la eliminación (de ser necesario) del grupo halógeno bloqueante (etapa c) con deshalogenación catalizada por paladio y saponificación catalizada por ácido o base (etapa d). Puede invertirse el orden de las etapas de desprotección y saponificación; es decir, la etapa c puede producirse antes o después de la etapa d, tal como se representa en el Esquema 1.

Haciendo referencia de nuevo al Esquema 1, el derivado de anilina **2c** puede prepararse a partir del compuesto nitrogenado **2a** a través de una secuencia de tres etapas. Por lo tanto, el acoplamiento de **2a** con una amina cíclica



**3** tal como se define en el presente documento en presencia de trietilamina proporciona el compuesto **2b**. La reducción catalizada por paladio de **2b** proporciona la amina **2c**.

### Esquema 2. Preparación de Compuestos de Fórmula I



a) DMSO,  $K_2CO_3$ ,  $80^\circ C$ ; b) N,N-dimetilprop-2-in-1-amina,  $Pd(PPh_3)_2Cl_2$ , CuI, DMF, TEA,  $80^\circ C$ ; c) Fe,  $FeSO_4$ ,  $H_2O$  o Zn, AcOH,  $H_2O$ ; d) HATU,  $Et_3N$ , DMF o anhídrido cíclico del ácido propil fosfónico (T3P®), piridina, 2-metiltetrahydrofurano.

El Esquema 2 representa la síntesis de un compuesto de Fórmula (I) que porta una cadena lateral de propinilamina. Por lo tanto, el acoplamiento del nitrobenzeno **2a**, en el que Hal es bromuro, cloruro o similar, con

5



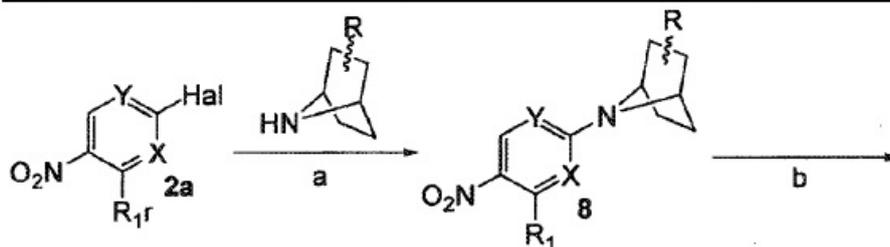
10

**3** como se define en el presente documento en presencia de carbonato de potasio en DMSO proporciona el compuesto **4**. El acoplamiento catalizado por paladio del compuesto **4** con N,N-dimetilprop-2-in-1-amina, seguido de reducción catalizada por hierro o cinc del resto nitro, proporciona la amina **5**. El acoplamiento de la amina **5** con el ácido carboxílico **1d** proporciona el compuesto **6** que es un compuesto de Fórmula (I).

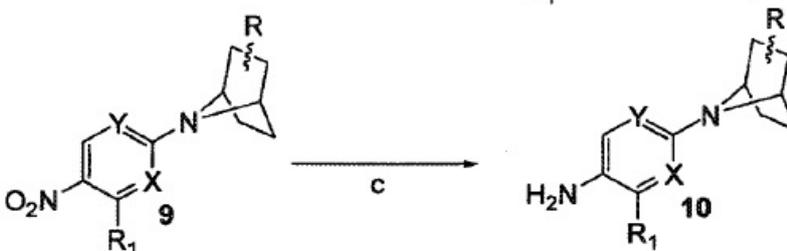
15

**Esquema 3. Preparación de Compuestos de Fórmula I en los que R es H u OH**

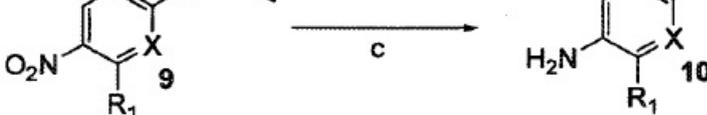
20



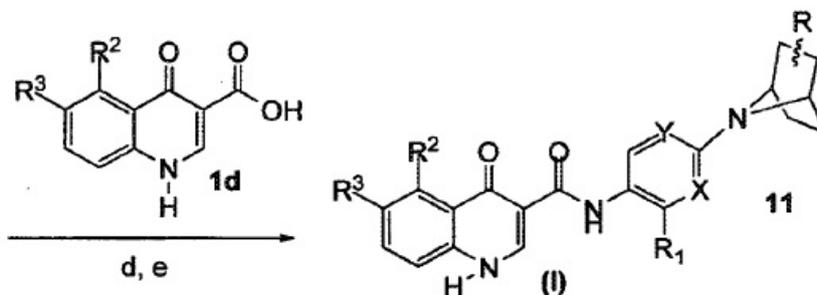
25



30



35



40

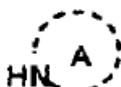
45

a) DMSO,  $K_2CO_3$ , calor o  $CH_3CN$ , TEA, calor; b) (opcional cuando R es OH) PGX tal como TBDMSCl, base tal como imidazol, DMF; c)  $H_2$ , Pd/C, EtOH; d) HATU,  $Et_3N$ , DMF o anhídrido cíclico del ácido propil fosfónico (T3P®), piridina, 2-metiltetrahidrofurano; e) desprotección de PG, tal como HCl, EtOH. PG = grupo protector; X = grupo saliente.

55

El Esquema 3 representa la síntesis de un compuesto de Fórmula (I) en el que

60



65

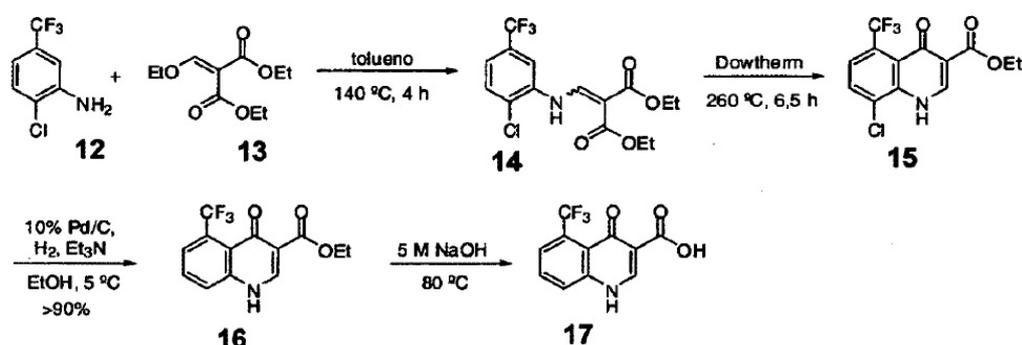
**3** es 7-azabicyclo[2.2.1]heptano, que porta opcionalmente un grupo exo o endo hidroxilo en la posición 2. Los aductos sustituidos con hidroxilo (+)-endo-7-azabicyclo[2.2.1]heptan-2-ol, (-)-endo-7-azabicyclo[2.2.1]heptan-2-ol, (+)-exo-7-azabicyclo[2.2.1]heptan-2-ol y (-)-exo-7-azabicyclo[2.2.1]heptan-2-ol pueden prepararse utilizando procedimientos como los descritos en Fletcher, S.R., *et al.*, "Total Synthesis and Determination of the Absolute

Configuration of Epibatidine", J. Org. Chem, 59, págs. 1771-1778 (1994). El propio 7-azabicyclo[2.2.1]heptano está disponible en el mercado en Tyger Scientific Inc., 324 Stokes Avenue, Ewing, NJ, 08638 EE.UU.

Por lo tanto, al igual que con la serie de transformaciones que se resumen en los Esquemas 1 y 2, el acoplamiento del compuesto **2a** con la amina de biciclo[2.2.1] **7** proporciona el compuesto **8**. Si existe un grupo hidroxilo en el compuesto **8**, puede ser necesario proteger el grupo hidroxilo con un grupo protector antes de las transformaciones posteriores. Por lo tanto, el tratamiento del compuesto **8** con cloruro de *tert*-butildimetilsililo utilizando condiciones conocidas proporciona el compuesto protegido **9** antes de la reducción del resto nitro para proporcionar la amina **10**. La formación de la amida con **1d** (véase el Esquema 4) y la eliminación del grupo protector de hidroxilo (según sea necesario) proporciona el compuesto **11** que es un compuesto de Fórmula (I).

## EJEMPLOS

Producto intermedio 1: Preparación del ácido 4-oxo-5-(trifluorometil)-1,4-dihidroquinolina-3-carboxílico



**Preparación de 2-((2-cloro-5-(trifluorometil)fenilamino)metileno) malonato de dietilo (14).** Se combinaron 2-cloro-5-(trifluorometil)anilina **12** (200 g, 1,023 mol), malonato de 2-(etoximetileno) dietilo **13** (276 g, 1,3 mol) y tolueno (100 ml), en atmósfera de nitrógeno, en un matraz de fondo redondo de 1 litro y tres bocas, equipado con un condensador Dean-Stark. Se calentó la solución con agitación a 140°C y se mantuvo la temperatura durante 4 horas. Se enfrió la mezcla de reacción a 70°C y se añadió lentamente hexano (600 ml). Se agitó la suspensión resultante y se dejó calentar a temperatura ambiente. Se recogió el sólido por filtración, se lavó con acetato de etilo en hexano al 10% (2 x 400 ml) y a continuación se secó a vacío para proporcionar un sólido blanco (350 g, rendimiento del 94%) como el producto de condensación deseado 2-((2-cloro-5-(trifluorometil)fenilamino)metileno) malonato de dietilo **14**. <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 11,28 (d, J = 13,0 Hz, 1H), 8,63 (d, J = 13,0 Hz, 1H), 8,10 (s, 1H), 7,80 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,50 (dd, J = 1,5, 8,4 Hz, 1H), 4,24 (q, J = 7,1 Hz, 2H), 4,17 (q, J = 7,1 Hz, 2H), 1,27 (m, 6H).

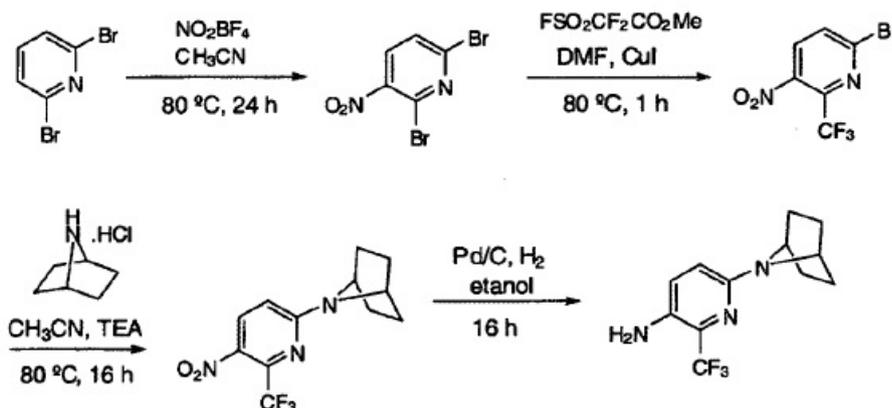
**Preparación de 8-cloro-4-oxo-5-(trifluorometil)-1,4-dihidroquinolina-3-carboxilato de etilo (15).** Se cargó un matraz de 1 litro y 3 bocas con Dowtherm® (200 ml, 8 ml/g), que se desgasificó a 200°C durante 1 hora. Se calentó el disolvente a 260°C y se cargó en porciones durante 10 minutos con 2-((2-cloro-5-(trifluorometil)fenilamino)metileno) malonato de dietilo **14** (25 g, 0,07 mol). Se agitó la mezcla resultante a 260°C durante 6,5 horas (h) y se eliminó el subproducto etanol resultante por destilación. Se dejó enfriar la mezcla lentamente hasta 80°C. Se añadió lentamente hexano (150 ml) durante 30 minutos (min), seguido de 200 ml adicionales de hexano añadido en una porción. Se agitó la suspensión hasta que alcanzó la temperatura ambiente. Se filtró el sólido, se lavó con hexano (3 x 150 ml) y a continuación se secó a vacío para proporcionar 8-cloro-4-oxo-5-(trifluorometil)-1,4-dihidroquinolina-3-carboxilato de etilo **15** en forma de sólido de color canela (13,9 g, rendimiento del 65%). <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 11,91 (s, 1H), 8,39 (s, 1H), 8,06 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,81 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 4,24 (q, J = 7,1 Hz, 2H), 1,29 (t, J = 7,1 Hz, 3H).

**Preparación de 4-oxo-5-(trifluorometil)-1H-quinolina-3-carboxilato de etilo (16).** Se cargó un matraz de 5 litros y 3 bocas, con 8-cloro-4-oxo-5-(trifluorometil)-1,4-dihidroquinolina-3-carboxilato de etilo **15** (100 g, 0,3 mol), etanol (1250 ml, 12,5 ml/g) y trietilamina (220 ml, 1,6 mol). A continuación, se cargó el recipiente con 10 g de Pd/C al 10% (húmedo al 50%) a 5°C. Se agitó la reacción enérgicamente en atmósfera de hidrógeno durante 20 horas a 5°C, después de lo cual se concentró la mezcla de reacción a un volumen de aproximadamente 150 ml. El producto, 4-oxo-5-(trifluorometil)-1H-quinolina-3-carboxilato de etilo **16**, en forma de suspensión con Pd/C, se llevó directamente a la siguiente etapa.

**Preparación de ácido 4-oxo-5-(trifluorometil)-1,4-dihidroquinolina-3-carboxílico (17).** Se suspendió 4-oxo-5-(trifluorometil)-1H-quinolina-3-carboxilato de etilo **16** (58 g, 0,2 mol, suspensión de la reacción en bruto que contenía Pd/C) en NaOH (814 ml de 5 M, 4,1 mol) en un matraz de 1 litro con un condensador de reflujo y se calentó

a 80°C durante 18 horas, seguido de calentamiento adicional a 100°C durante 5 horas. Se filtró la reacción en caliente a través de Celite compactado para eliminar el Pd/C y se lavó el Celite con NaOH 1 N. Se acidificó el filtrado hasta aproximadamente pH 1 para obtener un precipitado blanco espeso. Se filtró el precipitado, a continuación se aclaró con agua y acetonitrilo frío. A continuación, se secó el sólido a vacío para proporcionar ácido 4-oxo-5-(trifluorometil)-1,4-dihidroquinolina-3-carboxílico **17** en forma de sólido blanco (48 g, rendimiento del 92%). <sup>1</sup>H RMN (400,0 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 15,26 (s, 1H), 13,66 (s, 1H), 8,98 (s, 1H), 8,13 (dd, J = 1,6, 7,8 Hz, 1H), 8,06 - 7,99 (m, 2H).

Producto intermedio 2: Preparación de 6-(7-azabicyclo[2.2.1]heptan-7-il)-2-(trifluorometil)piridin-3-amina.



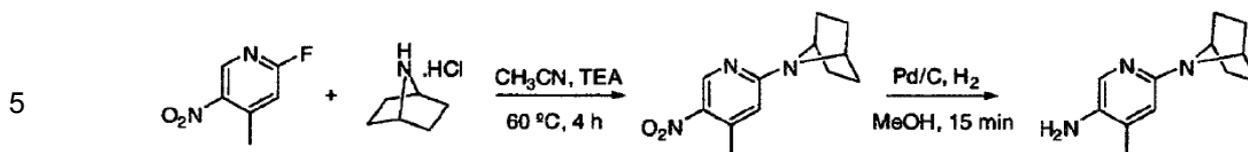
A una solución de 2,6-dibromopiridina (10,0 g, 42,6 mmol) en CH<sub>3</sub>CN anhidro (100 ml) se añadió lentamente NO<sub>2</sub><sup>+</sup>BF<sub>4</sub><sup>-</sup> (11,3 g, 85,2 mmol). Se calentó la mezcla de reacción a 80°C en atmósfera de nitrógeno durante 24 horas. A continuación, se evaporó la mezcla a sequedad y se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (acetato de etilo en éter de petróleo al 0%-3%) para proporcionar 2,6-dibromo-3-nitropiridina (5,7 g, 47,9%). <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8,03 (d, J = 8,4 Hz, 1 H), 7,65 (d, J = 8,4 Hz, 1 H).

A una solución de 2,6-dibromo-3-nitropiridina (5,7 g, 20,4 mmol) en DMF (40 ml) se añadió CuI (3,9 g, 20,4 mmol) y FSO<sub>2</sub>CF<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>Me (4,7 g, 24,5 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a 80°C durante 1 hora. Después de enfriar a temperatura ambiente, se vertió la mezcla de reacción en agua (100 ml) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 100 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se purificaron mediante cromatografía en gel de sílice (acetato de etilo en éter de petróleo al 0%-3%) para proporcionar 6-bromo-3-nitro-2-(trifluorometil)piridina (3,0 g, rendimiento del 45%). <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8,12 (d, J = 8,4 Hz, 1 H), 7,94 (d, J = 8,4 Hz, 1 H).

Una solución de 6-bromo-3-nitro-2-(trifluorometil)piridina (300 mg, 1,107 mmol), clorhidrato de 7-azabicyclo[2.2.1]heptano (177,4 mg, 1,328 mmol) y trietilamina (224,0 mg, 308,5 µl, 2,214 mmol) en acetonitrilo (3 ml) se calentó a 80°C durante toda la noche. Se enfrió la reacción a temperatura ambiente y se interrumpió con agua. El precipitado resultante se filtró, se lavó con agua y se secó a vacío para proporcionar 7-[5-nitro-6-(trifluorometil)-2-piridil]-7-azabicyclo[2.2.1]heptano (300 mg, rendimiento del 94%). <sup>1</sup>H RMN (400,0 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8,27 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 7,20 (d, J = 9,3 Hz, 1H), 4,71 (s, 2H), 1,71 (d, J = 7,7 Hz, 4H), 1,55 (d, J = 6,9 Hz, 4H).

Se lavó abundantemente con nitrógeno un matraz cargado con 7-[5-nitro-6-(trifluorometil)-2-piridil]-7-azabicyclo[2.2.1]heptano (530 mg, 1,845 mmol) y Pd/C al 10% (53 mg, 0,4980 mmol), seguido de la evacuación a vacío. Se añadió etanol (6 ml) en atmósfera inerte y se equipó el matraz con un globo de hidrógeno. Después de 16 horas de agitación enérgica, se eliminó el Pd/C por filtración y se eliminó el disolvente a presión reducida. Se purificó el material en bruto mediante cromatografía en gel de sílice (acetato de etilo en hexanos al 0%-10%) para proporcionar 6-(7-azabicyclo[2.2.1]heptan-7-il)-2-(trifluorometil)piridin-3-amina (381 mg, rendimiento del 80%). <sup>1</sup>H RMN (400,0 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7,17 (d, J = 8,9 Hz, 1H), 6,97 (d, J = 8,9 Hz, 1H), 5,03 (s, 2H), 4,29 (s, 2H), 1,59 (t, J = 3,4 Hz, 4H), 1,37 (d, J = 6,7 Hz, 4H).

Producto intermedio 3: Preparación de 6-(7-azabicyclo[2.2.1]heptan-7-il)-4-metilpiridin-3-amina.



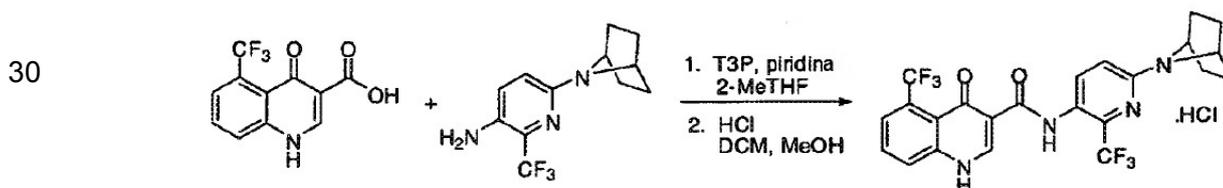
10 A una solución de 2-fluoro-4-metil-5-nitropiridina (150 mg, 0,9608 mmol) en acetonitrilo (5 ml) se añadió clorhidrato de 7-azabicyclo[2.2.1]heptano (152,9 mg, 1,153 mmol) y Et<sub>3</sub>N (243,1 mg, 334,8 µl, 2,402 mmol). Se calentó la reacción a 80 °C durante 16 horas. Se interrumpió la reacción con agua (2 ml) y se evaporó el disolvente. Se disolvió el residuo en acetato de etilo (15 ml), se lavó con HCl 1 N (10 ml), se secó sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró para proporcionar 6-(7-azabicyclo[2.2.1]heptan-7-il)-4-metilpiridin-3-amina (160 mg, rendimiento del 71%) en forma de sólido amarillo que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación. <sup>1</sup>H RMN (400,0 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8,96 (s, 1H), 6,37 (s, 1H), 4,59 (s, 2H), 2,59 (d, J = 0,4 Hz, 3H), 1,83 - 1,80 (m, 4H), 1,61 - 1,54 (m, 4H).

15

A una solución de 6-(7-azabicyclo[2.2.1]heptan-7-il)-4-metilpiridin-3-amina (146 mg, 0,6259 mmol) en una mezcla 1:1 de metanol:acetato de etilo (solución amarilla) se añadió Pd/C al 10% y se agitó en atmósfera de hidrógeno durante 2 horas. Se diluyó la reacción con acetato de etilo (5 ml) y se filtró a través de Celite compactado. Se concentró el filtrado a sequedad para proporcionar anilina en forma de sólido amarillo (120 mg, rendimiento del 94%). <sup>1</sup>H RMN (400,0 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,68 (s, 1H), 6,50 (s, 1H), 4,34 - 4,31 (m, 2H), 3,20 (s, 2H), 2,14 (s, 3H), 1,78 - 1,75 (m, 4H), 1,44 - 1,39 (m, 4H).

20

25 **Compuesto 2 de ejemplo:** Preparación de N-(6-(7-azabicyclo[2.2.1]heptan-7-il)-2-(trifluorometil)piridin-3-il)-4-oxo-5-(trifluorometil)-1,4-dihidroquinolina-3-carboxamida (Compuesto 2, Tabla 1)



A una solución de ácido 4-oxo-5-(trifluorometil)-1H-quinolina-3-carboxílico (100 mg, 0,3889 mmol) y 6-(7-azabicyclo[2.2.1]heptan-7-il)-2-(trifluorometil)piridin-3-amina (110,1 mg, 0,4278 mmol) en 2-metiltetrahidrofurano (1,0 ml) se añadió anhídrido cíclico del ácido propil fosfónico (solución al 50% en acetato de etilo, 495,0 µl, 0,7778 mmol) y piridina (61,52 mg, 62,90 µl, 0,7778 mmol). Se tapó la reacción y se calentó a 60 °C durante 16 horas. Se enfrió la reacción a temperatura ambiente, se diluyó con acetato de etilo (10 ml) y se interrumpió con solución saturada de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (6 ml). Después de agitar durante 20 minutos, la capa orgánica se separó, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró. La purificación mediante cromatografía en gel de sílice (acetato de etilo en diclorometano al 0%-20%) proporcionó N-(6-(7-azabicyclo[2.2.1]heptan-7-il)-2-(trifluorometil)piridin-3-il)-4-oxo-5-(trifluorometil)-1,4-dihidroquinolina-3-carboxamida (137 mg, rendimiento del 71%). LC/MS *m/z* 497,5 [M+H]<sup>+</sup>, tiempo de retención 1,92 minutos (RP-C<sub>18</sub>, CH<sub>3</sub>CN al 10%-99%/TFA al 0,05% durante 3 minutos).

40

45

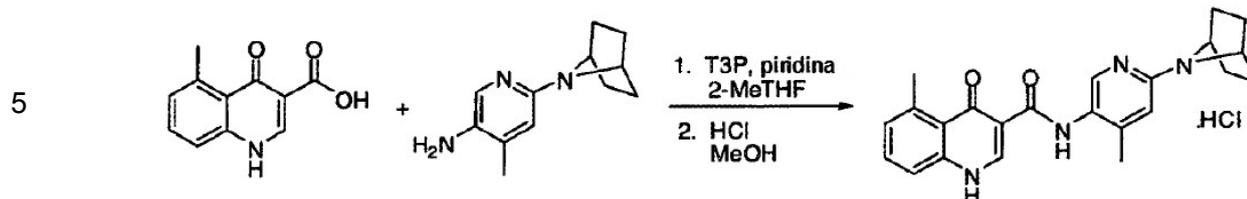
A una suspensión de N-[6-(7-azabicyclo[2.2.1]heptan-7-il)-2-(trifluorometil)-3-piridil]-4-oxo-5-(trifluorometil)-1H-quinolina-3-carboxamida (130 mg, 0,2619 mmol) en diclorometano (2 ml) y metanol (1 ml) se añadió, gota a gota, HCl 2 M en éter (131,0 µl de 2 M, 0,2619 mmol), en atmósfera de nitrógeno. La reacción pasó de una suspensión a una solución transparente. Se agitó la solución durante 20 minutos, lo que dio como resultado la precipitación de la sal de clorhidrato. Se diluyó la suspensión con éter dietílico y se agitó durante 2 horas. La sal se filtró y se lavó con éter dietílico para dar clorhidrato de N-[6-(7-azabicyclo[2.2.1]heptan-7-il)-2-(trifluorometil)-3-piridil]-4-oxo-5-(trifluorometil)-1H-quinolina-3-carboxamida (133 mg, 95% de rendimiento). <sup>1</sup>H RMN (400,0 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 13,23 (d, J = 5,8 Hz, 1H), 12,22 (s, 1H), 8,88 (d, J = 6,6 Hz, 1H), 8,23 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 8,06 (dd, J = 2,1, 7,2 Hz, 1H), 7,96 - 7,90 (m, 2H), 7,22 (d, J = 9,1 Hz, 1H), 4,52 (s, 2H), 1,68 (d, J = 7,2 Hz, 4H), 1,47 (d, J = 6,9 Hz, 4H).

50

55

60 **Compuesto 1 de ejemplo:** Preparación de clorhidrato de N-(6-(7-azabicyclo[2.2.1]heptan-7-il)-4-metilpiridin-3-il)-5-metil-4-oxo-1,4-dihidroquinolina-3-carboxamida (Compuesto 1, Tabla 1)

65



10  
15  
20

A una solución de ácido 5-metil-4-oxo-1H-quinolina-3-carboxílico (60 mg, 0,2953 mmol) y 6-(7-azabicyclo[2.2.1]heptan-7-il)-4-metil-piridin-3-amina (60,03 mg, 0,2953 mmol) en 2-metiltetrahidrofurano (1 ml) se añadió anhídrido cíclico del ácido propil fosfónico (375,8 µl de 50% p/v, 0,5906 mmol) seguido de piridina (46,72 mg, 47,77 µl, 0,5906 mmol). Se irradió la mezcla con microondas durante 1 hora a 100°C. La mezcla de reacción en bruto se diluyó con acetato de etilo (2 ml) y se inactivó con solución de NaHCO<sub>3</sub> al 10% (3 ml). El precipitado resultante se filtró y se lavó con acetato de etilo (5 ml). Se resuspendió el sólido en Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> acuoso al 20% (5 ml)/metanol (2 ml) y se agitó durante 30 minutos. El sólido se filtró, se aclaró con agua y se secó al aire para proporcionar N-(6-(7-azabicyclo[2.2.1]heptan-7-il)-4-metilpiridin-3-il)-5-metil-4-oxo-1,4-dihidroquinolina-3-carboxamida (30 mg, rendimiento del 26%). LC/MS *m/z* 389,4 [M+H]<sup>+</sup>, tiempo de retención 1,33 minutos (RP-C<sub>18</sub>, CH<sub>3</sub>CN al 10%-99%/ TFA al 0,05% durante 3 minutos).

25

Se disolvió N-(6-(7-azabicyclo[2.2.1]heptan-7-il)-4-metilpiridin-3-il)-5-metil-4-oxo-1,4-dihidroquinolina-3-carboxamida en metanol (2 ml) y se trató con HCl 2 M en éter (295,3 µl de 2 M, 0,5906 mmol). Se evaporó la solución para proporcionar clorhidrato de N-(6-(7-azabicyclo[2.2.1]heptan-7-il)-4-metilpiridin-3-il)-5-metil-4-oxo-1,4-dihidroquinolina-3-carboxamida. <sup>1</sup>H RMN (400,0 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 12,71 (s, 1H), 12,12 (s, 1H), 8,78 (s, 1H), 8,74 (s, 1H), 7,63 - 7,59 (m, 1H), 7,54 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 7,22 (d, *J* = 7,1 Hz, 1H), 6,81 (s, 1H), 4,44 (s, 2H), 2,91 (s, 3H), 2,28 (s, 3H), 1,65 (d, *J* = 7,2 Hz, 4H), 1,42 (d, *J* = 6,8 Hz, 4H).

30

Los datos analíticos para los compuestos de la Tabla 1 se muestran a continuación en la Tabla 2:

Tabla 2

35  
40  
45

Comp. de ejemplo #	LC/MS M+1	LC/RT <sup>a</sup> min	RMN
1	389,40	1,33	<sup>1</sup> H RMN (400,0 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ) δ 12,71 (s, 1H), 12,12 (s, 1H), 8,78 (s, 1H), 8,74 (s, 1H), 7,63 - 7,59 (m, 1H), 7,54 (d, <i>J</i> = 8,3 Hz, 1H), 7,22 (d, <i>J</i> = 7,1 Hz, 1H), 6,81 (s, 1H), 4,44 (s, 2H), 2,91 (s, 3H), 2,28 (s, 3H), 1,65 (d, <i>J</i> = 7,2 Hz, 4H), 1,42 (d, <i>J</i> = 6,8 Hz, 4H),
2	497,50	1,92	<sup>1</sup> H RMN (400,0 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ) δ 13,23 (d, <i>J</i> = 5,8 Hz, 1H), 12,22 (s, 1H), 8,88 (d, <i>J</i> = 6,6 Hz, 1H), 8,23 (d, <i>J</i> = 9,0 Hz, 1H), 8,06 (dd, <i>J</i> = 2,1, 7,2 Hz, 1H), 7,96 - 7,90 (m, 2H), 7,22 (d, <i>J</i> = 9,1 Hz, 1H), 4,52 (s, 2H), 1,68 (d, <i>J</i> = 7,2 Hz, 4H), 1,47 (d, <i>J</i> = 6,9 Hz, 4H),
3	443,70	1,94	<sup>1</sup> H RMN (400,0 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ) δ 12,73 (s, 1H), 12,52 (s, 1H), 8,75 (s, 1H), 8,28 (d, <i>J</i> = 9,2 Hz, 1H), 7,64 - 7,60 (m, 1H), 7,54 (d, <i>J</i> = 8,2 Hz, 1H), 7,23 - 7,19 (m, 2H), 4,51 (s, 2H), 2,89 (s, 3H), 1,67 (d, <i>J</i> = 7,9 Hz, 4H), 1,47 (d, <i>J</i> = 6,9 Hz, 4H),

<sup>a</sup> Tiempo de retención

50 **Ensayos para detectar y medir las propiedades de potenciación de ΔF508-CFTR de los compuestos**

Métodos ópticos de potencial de membrana para ensayar las propiedades de modulación de ΔF508-CFTR de los compuestos

55 El ensayo utiliza colorantes fluorescentes de detección de voltaje para medir los cambios en el potencial de membrana utilizando un lector de placas fluorescentes (por ejemplo, FLIPR III, Molecular Devices, Inc.) como una lectura del aumento de ΔF508-CFTR funcional en células NIH 3T3. La fuerza impulsora para la respuesta es la creación de un gradiente de ion cloruro junto con la activación del canal mediante una sola etapa de adición de líquido después de haber sido tratadas las células previamente con los compuestos y cargadas posteriormente con un colorante de detección de voltaje.

60

Identificación de compuestos potenciadores

65 Para identificar los potenciadores de ΔF508-CFTR, se desarrolló un formato analítico HTS de adición doble. Este ensayo HTS utiliza colorantes fluorescentes de detección de voltaje para medir los cambios en el potencial de membrana en el FLIPR III como medida del aumento de la apertura y cierre (conductancia) de ΔF508-CFTR en

células NIH 3T3 con  $\Delta F508$ -CFTR con pretratamiento térmico. La fuerza impulsora para la respuesta es un gradiente de iones  $Cl^-$  junto con la activación del canal con forskolina en una sola etapa de adición de líquido utilizando un lector de placas fluorescentes tal como FLIPR III después de haber sido tratadas las células previamente con los compuestos potenciadores (o vehículo de control DMSO) y cargadas posteriormente con un colorante de redistribución.

### Soluciones

Solución de baño # 1: (en mM) NaCl 160, KCl 4,5,  $CaCl_2$  2,  $MgCl_2$  1, HEPES 10, pH 7,4 con NaOH.

Solución de baño sin cloruro: Las sales de cloruro de la Solución de baño # 1 se sustituyen con sales de gluconato.

### Cultivo celular

Para las mediciones ópticas del potencial de membrana se utilizan fibroblastos de ratón NIH3T3 que expresan de forma estable  $\Delta F508$ -CFTR. Las células se mantienen a 37°C en  $CO_2$  al 5% y 90% de humedad en medio de Eagle modificado por Dulbecco complementado con glutamina 2 mM, suero de ternera fetal al 10%, 1 X NEAA,  $\beta$ -ME, 1 X pen/strep y HEPES 25 mM en matraces de cultivo de 175 cm<sup>2</sup>. Para todos los ensayos ópticos, las células se sembraron a ~20.000/pocillo en placas recubiertas de matrigel de 384 pocillos y se cultivaron durante 2 horas a 37°C antes de cultivarse a 27°C durante 24 horas para el ensayo del potenciador. Para los ensayos de corrección, las células se cultivan a 27°C ó 37°C con y sin los compuestos durante 16-24 horas.

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

#### 1. Ensayo en cámara de Ussing

Se realizaron experimentos en cámara de Ussing en células epiteliales de las vías respiratorias polarizadas que expresaban  $\Delta F508$ -CFTR para caracterizar adicionalmente los moduladores de  $\Delta F508$ -CFTR identificados en los ensayos ópticos. Se aislaron epitelios de las vías respiratorias FQ y no FQ a partir de tejido bronquial, se cultivaron como se ha descrito anteriormente (Galletta, 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™ que se recubrieron previamente con medios acondicionados para NIH3T3. Después de cuatro días se retiraron los medios apicales y se cultivaron las células en una interfase aire-líquido durante > 14 días antes de su uso. Esto dio como resultado una monocapa de células cilíndricas completamente diferenciadas que eran ciliadas, rasgos que son característicos de los epitelios de las vías respiratorias. Se aislaron HBE no FQ de no fumadores sin enfermedad pulmonar conocida. Se aislaron HBE FQ de pacientes homocigóticos para  $\Delta F508$ -CFTR.

Se montaron HBE cultivadas en insertos de cultivo celular Costar® Snapwell™ 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 ( $I_{sc}$ ) utilizando un sistema de fijación de voltaje (Departamento de Bioingeniería, Universidad de Iowa, IA). En resumen, se examinaron las HBE en modo de registro de fijación de voltaje ( $V_{hold}=0mV$ ) 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 a 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 a 7,35 con NaOH).

#### Identificación de compuestos potenciadores

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

#### 2. Pinzamientos zonales

Se monitorizó la corriente total de  $Cl^-$  en células  $\Delta F508$ -NIH3T3 utilizando el pinzamiento zonal en su configuración "perforated patch" ("parche perforado") como se ha descrito anteriormente (Rae, J., Cooper, K., Gates, P., y Watsky, M. (1991) *J. Neurosci. Methods* 37, 15-26). Los registros de fijación de voltaje se realizaron a 22°C utilizando 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 pulsos, la adquisición de datos y el análisis se realizaron utilizando un PC equipado con una interfaz Digidata 1320 A/D junto con Clampex 8 (Axon Instruments Inc.). Para activar el  $\Delta F508$ -CFTR, se añadieron al baño forskolina 10  $\mu M$  y genisteína 20  $\mu M$  y la relación corriente-voltaje se monitorizó cada 30 segundos.

Identificación de compuestos potenciadores

También se investigó la capacidad de los potenciadores de  $\Delta F508$ -CFTR para aumentar la corriente macroscópica de  $Cl^-$  de  $\Delta F508$ -CFTR ( $I_{\Delta F508}$ ) en células NIH3T3 que expresan de forma estable  $\Delta F508$ -CFTR utilizando las técnicas de pinzamiento zonal en su configuración "parche perforado". Los potenciadores identificados a partir de los ensayos ópticos provocaban un aumento dependiente de la dosis en  $I_{\Delta F508}$  con potencia y eficacia similares observadas en los ensayos eléctricos. 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).

**Cultivo celular**

Se utilizan fibroblastos de ratón NIH3T3 que expresan de forma estable  $\Delta F508$ -CFTR para los pinzamientos zonales en su configuración "whole cell" ("célula completa"). Las células se mantienen a 37°C en  $CO_2$  al 5% y 90% de humedad en medio de Eagle modificado por Dulbecco complementado con glutamina 2 mM, suero de ternera fetal al 10%, 1 X NEAA,  $\beta$ -ME, 1 X pen/strep y HEPES 25 mM en matraces de cultivo de 175 cm<sup>2</sup>. Para los pinzamientos zonales en su configuración "célula completa", se sembraron 2.500-5.000 células en cubreobjetos de vidrio 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.

## 3. Registros de un solo canal

Se observó la actividad de apertura y cierre de CFTR de tipo silvestre y  $\Delta F508$ -CFTR con pretratamiento térmico expresado en células NIH3T3 utilizando pinzamientos zonales en su variante "excised inside-out membrane" ("membrana escindida interior-fuera") como se ha descrito anteriormente (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) utilizando un amplificador de pinzamiento zonal Axopatch 200B (Axon Instruments Inc.). La pipeta contenía (en mM): NMDG 150, ácido aspártico 150,  $CaCl_2$  5,  $MgCl_2$  2 y HEPES 10 (pH ajustado a 7,35 con base Tris). El baño contenía (en mM): NMDG-Cl 150,  $MgCl_2$  2, EGTA 5, TES 10 y base Tris 14 (pH ajustado a 7,35 con HCl). Después de la escisión, el CFTR de tipo silvestre y el  $\Delta F508$ -CFTR se activaron añadiendo Mg-ATP 1 mM, 75 nM de la subunidad catalítica de la proteína quinasa dependiente de AMPc (PKA; Promega Corp. Madison, WI) y NaF 10 mM para inhibir la proteína fosfatasa, lo que impidió la disminución de la corriente. El potencial de la pipeta se mantuvo a 80 mV. La actividad del canal se analizó a partir de "parches de membrana" (áreas de membrana pinzada) que contenían  $\leq 2$  canales activos. El número máximo de aberturas simultáneas determinaba el número de canales activos durante un experimento. Para determinar la amplitud de corriente de un solo canal, los datos registrados de 120 segundos de actividad  $\Delta F508$ -CFTR se filtraron "off-line" a 100 Hz y a continuación se utilizaron para construir histogramas de amplitud de todos los puntos que se ajustaron con funciones multigaussianas mediante el software Bio-Patch Analysis (Bio-Logic Comp. Francia). La corriente microscópica total y la probabilidad de apertura ( $P_o$ ) se determinaron a partir de 120 segundos de actividad del canal. La  $P_o$  se determinó mediante el software Bio-Patch o a partir de la relación  $P_o = I/i(N)$ , en la que  $I$  = corriente media,  $i$  = amplitud de corriente de un solo canal y  $N$  = número de canales activos en el "parche".

**Cultivo celular**

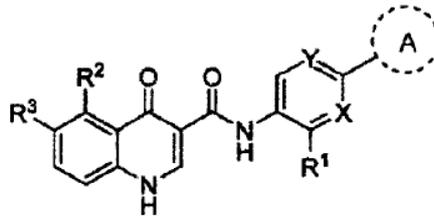
Se utilizan fibroblastos de ratón NIH3T3 que expresan de forma estable  $\Delta F508$ -CFTR para los pinzamientos zonales en su variante "membrana escindida". Las células se mantienen a 37°C en  $CO_2$  al 5% y 90% de humedad en medio de Eagle modificado por Dulbecco complementado con glutamina 2 mM, suero de ternera fetal al 10%, 1 X NEAA,  $\beta$ -ME, 1 X pen/strep y HEPES 25 mM en matraces de cultivo de 175 cm<sup>2</sup>. Para los registros de un solo canal, se sembraron 2.500-5.000 células en cubreobjetos de vidrio recubiertos con poli-L-lisina y se cultivaron durante 24-48 horas a 27°C antes de su uso.

Los compuestos de la invención son útiles como moduladores de los transportadores de casete de unión a ATP. Los ejemplos de actividades y eficacias de los compuestos de Fórmula (I) se muestran a continuación en la Tabla 3. La actividad del compuesto se ilustra con "+++" si se medía que la actividad era inferior a 2,0  $\mu M$ , "++" si se medía que la actividad era de 2  $\mu M$  a 5,0  $\mu M$ , "+" si se medía que la actividad era superior a 5,0  $\mu M$ , y "-" si no se disponía de datos. La eficacia se ilustra con "+++" si se calculaba que la eficacia era superior al 100%, "++" si se calculaba que la eficacia era del 100% al 25%, "+" si se calculaba que la eficacia era inferior al 25%, y "-" si no se disponía de datos. Cabe señalar que el 100% de eficacia es la respuesta máxima obtenida con el 4-metil-2-(5-fenil-1H-pirazol-3-il)fenol.

Tabla 3

Nº de compuesto	Actividad CE <sub>50</sub> (µm)	% de eficacia
1	+++	++
2	+++	++
3	+++	++

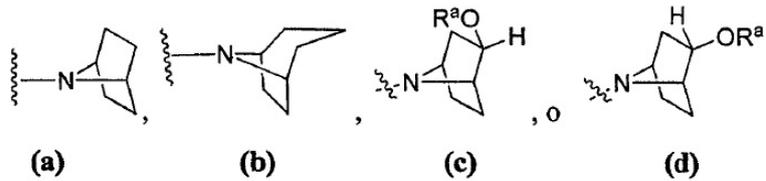
1. Un compuesto de Fórmula I



(I);

o sales farmacéuticamente aceptables del mismo, en la que:

el anillo A está seleccionado de entre:



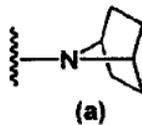
en la que:

R<sup>1</sup> es -CH<sub>3</sub>, -CF<sub>3</sub> o -CN;  
 R<sup>2</sup> es hidrógeno, -CH<sub>3</sub>, -CF<sub>3</sub>, -OH o -CH<sub>2</sub>OH;  
 R<sup>3</sup> es hidrógeno, -CH<sub>3</sub>, -OCH<sub>3</sub> o -CN;

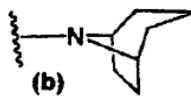
siempre que R<sup>2</sup> y R<sup>3</sup> no sean simultáneamente hidrógeno; y

uno entre X e Y es nitrógeno y el otro es carbono.

2. El compuesto según la cláusula 1, en el que el anillo A es

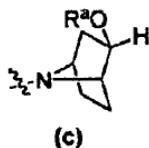


3. El compuesto según la cláusula 1, en el que el anillo A es



4. El compuesto según la cláusula 1, en el que el anillo A es

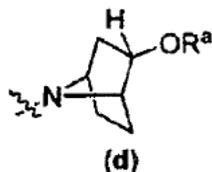
5



10

5. El compuesto según la cláusula 1, en el que el anillo A es

15



20

6. El compuesto según cualquiera de las cláusulas 2-5, en el que R¹ es -CF₃.

7. El compuesto según cualquiera de las cláusulas 2-5, en el que R¹ es -CN.

25

8. El compuesto según cualquiera de las cláusulas 2-5, en el que R¹ es -CH₃.

9. El compuesto según cualquiera de las cláusulas 6-8, en el que R² es hidrógeno.

30

10. El compuesto según cualquiera de las cláusulas 6-8, en el que R² es -CH₃.

11. El compuesto según cualquiera de las cláusulas 6-8, en el que R² es -CF₃.

12. El compuesto según cualquiera de las cláusulas 6-8, en el que R es -OH.

35

13. El compuesto según cualquiera de las cláusulas 6-8, en el que R² es -CH₂OH.

14. El compuesto según cualquiera de las cláusulas 9-13, en el que R³ es hidrógeno.

40

15. El compuesto según cualquiera de las cláusulas 9-13, en el que R³ es -CH₃.

16. El compuesto según cualquiera de las cláusulas 9-13, en el que R³ es -OCH₃.

17. El compuesto según cualquiera de las cláusulas 9-12, en el que R³ es -CN.

45

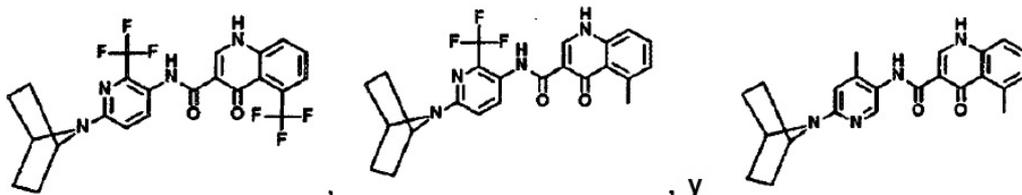
18. El compuesto según cualquiera de las cláusulas 1-17, en el que X es nitrógeno.

19. El compuesto según cualquiera de las cláusulas 1-17, en el que Y es nitrógeno.

50

20. Un compuesto seleccionado de entre

55



60

21. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto según cualquiera de las cláusulas 1-20 y un vehículo o adyuvante farmacéuticamente aceptable.

65

22. La composición farmacéutica según la cláusula 21, que comprende adicionalmente un agente adicional seleccionado de entre un mucolítico, un broncodilatador, un antibiótico, un antiinfeccioso, un antiinflamatorio, un modulador de CFTR distinto de un compuesto de Fórmula (I) o un agente nutricional.

23. La composición farmacéutica según la cláusula 22, en la que dicho agente adicional es un modulador de CFTR distinto de un compuesto de Fórmula (I).

5 24. Un método para tratar o disminuir la gravedad de una enfermedad en un paciente, en el que dicha enfermedad está seleccionada de entre la fibrosis quística, el asma, la EPOC inducida por tabaquismo, la bronquitis crónica, la rinosinusitis, el estreñimiento, la pancreatitis, la insuficiencia pancreática, la infertilidad masculina debida a la ausencia bilateral congénita de los conductos deferentes (CBAVD), la enfermedad pulmonar leve, la pancreatitis idiopática, la aspergilosis broncopulmonar alérgica (ABPA), la enfermedad hepática, el enfisema hereditario, la hemocromatosis hereditaria, las deficiencias de coagulación-fibrinólisis, tal como la deficiencia de proteína C, el angioedema hereditario de tipo 1, las deficiencias en el procesamiento de lípidos, tal como la hipercolesterolemia familiar, la quilomicronemia de tipo 1, la abetalipoproteinemia, las enfermedades de depósito lisosomal, tal como la enfermedad de células I/pseudo-Hurler, la mucopolisacaridosis, Sandhof/Tay-Sachs, Crigler-Najjar de tipo II, la poliendocrinopatía/hiperinsulinemia, la diabetes mellitus, el enanismo de Laron, la deficiencia de mieloperoxidasa, el hipoparatiroidismo primario, el melanoma, la glucanosis CDG de tipo 1, el hipertiroidismo congénito, la osteogénesis imperfecta, la hipofibrinogenemia hereditaria, la deficiencia de ACT, la diabetes insípida (DI), la DI neurohipofisaria, la DI nefrogénica, el síndrome de Charcot-Marie Tooth, la enfermedad de Pelizaeus-Merzbacher, enfermedades neurodegenerativas tales como la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson, la esclerosis lateral amiotrófica, la parálisis supranuclear progresiva, la enfermedad de Pick, varios trastornos neurológicos de la poliglutamina tales como el Huntington, la ataxia espinocerebelosa de tipo I, la atrofia muscular espinal y bulbar, la atrofia dentatorubro palidoluisiana y la distrofia miotónica, así como encefalopatías espongiiformes tales como la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob hereditaria (debida al defecto de procesamiento de proteínas priónicas), la enfermedad de Fabry, el síndrome de Strausler-Scheinker, la EPOC, la enfermedad del ojo seco, la insuficiencia pancreática, la osteoporosis, la osteopenia, el síndrome de Gorham, las canalopatías de cloruro, la miotonía congénita (formas Thomson y Becker), el síndrome de Bartter de tipo III, la enfermedad de Dent, la hiperekplexia, la epilepsia, la enfermedad de depósito lisosomal, el síndrome de Angelman, la discinesia ciliar primaria (DCP), la DCP con *situs inversus* (también conocida como síndrome de Kartagener), la DCP *sin situs inversus* y la aplasia ciliar o la enfermedad de Sjogren, comprendiendo dicho método la etapa de administrar a dicho paciente una cantidad eficaz de un compuesto según cualquiera de las cláusulas 1-20.

30 25. El método de acuerdo a la cláusula 24, en el que dicha enfermedad es la fibrosis quística.

35 26. Un método para tratar o disminuir la gravedad de una enfermedad en un paciente, en el que dicha enfermedad está asociada con la función reducida de CFTR debida a mutaciones en el gen que codifica el CFTR o factores ambientales, comprendiendo dicho método la etapa de administrar a dicho paciente una cantidad eficaz de un compuesto según cualquiera de las cláusulas 1-20.

40 27. El método según la cláusula 26, en el que la enfermedad es la fibrosis quística, la bronquitis crónica, la bronquitis recurrente, la bronquitis aguda, la infertilidad masculina debida a la ausencia bilateral congénita de los conductos deferentes (CBAVD), la infertilidad femenina debida a la ausencia congénita del útero y la vagina (CAUV), la pancreatitis crónica idiopática (ICP), la pancreatitis idiopática recurrente, la pancreatitis aguda idiopática, la rinosinusitis crónica, la colangitis esclerosante primaria, la diabetes, el ojo seco, el estreñimiento, la aspergilosis broncopulmonar alérgica (ABPA), las enfermedades óseas, y el asma.

45 28. Un método para tratar o disminuir la gravedad de una enfermedad en un paciente, en el que dicha enfermedad está asociada con la función normal de CFTR, comprendiendo dicho método la etapa de administrar a dicho paciente una cantidad eficaz de un compuesto según cualquiera de las cláusulas 1-20.

50 29. El método según la cláusula 28, en el que la enfermedad es la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), la bronquitis crónica, la bronquitis recurrente, la bronquitis aguda, la rinosinusitis, el estreñimiento, la pancreatitis crónica, la pancreatitis recurrente, y la pancreatitis aguda, la insuficiencia pancreática, la infertilidad masculina debida a congénita ausencia bilateral de los conductos deferentes (CBAVD), la enfermedad pulmonar leve, la pancreatitis idiopática, la enfermedad hepática, el enfisema hereditario, los cálculos biliares, la enfermedad por reflujo gastroesofágico, las neoplasias gastrointestinales, la enfermedad inflamatoria intestinal, el estreñimiento, la diabetes, la artritis, la osteoporosis y la osteopenia.

60 30. El método según la cláusula 28, en el que la enfermedad es la hemocromatosis hereditaria, las deficiencias de coagulación-fibrinólisis, tal como la deficiencia de proteína C, el angioedema hereditario de tipo 1, las deficiencias en el procesamiento de lípidos, tal como la hipercolesterolemia familiar, la quilomicronemia de tipo 1, abetalipoproteinemia, las enfermedades de depósito lisosomal, tal como enfermedad de células I/pseudo-Hurler, la mucopolisacaridosis, Sandhof/Tay-Sachs, Crigler-Najjar de tipo II, la poliendocrinopatía/hiperinsulinemia, la diabetes mellitus, el enanismo de Laron, la deficiencia de mieloperoxidasa, el hipoparatiroidismo primario, el melanoma, la glucanosis CDG de tipo 1, el hipertiroidismo congénito, la osteogénesis imperfecta, la hipofibrinogenemia hereditaria, la deficiencia de ACT, la diabetes insípida (DI), la DI neurohipofisaria, la DI nefrogénica, el síndrome de Charcot-Marie Tooth, la enfermedad Pelizaeus-Merzbacher, enfermedades neurodegenerativas tales como la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson, la esclerosis lateral amiotrófica, la parálisis supranuclear

progresiva, la enfermedad de Pick, varios trastornos neurológicos de la poliglutamina tales como el Huntington, la ataxia espinocerebelosa de tipo I, la atrofia muscular espinal y bulbar, la atrofia dentatorubro palidoluisiana, y la distrofia miotónica, así como encefalopatías espongiformes, tales como la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob hereditaria (debida a un defecto de procesamiento de proteínas priónicas), la enfermedad de Fabry, el síndrome Straussler-Scheinker, el síndrome de Gorham, las canalopatías de cloruro, la mionía congénita (formas Thomson y Becker), síndrome de Bartter de tipo III, la enfermedad de Dent, la hiperekplexia, la epilepsia, la enfermedad de depósito lisosomal, el síndrome de Angelman, la discinesia ciliar primaria (DCP), la DCP con *situs inversus* (también conocida como síndrome de Kartagener), la DCP *sin situs inversus* y la aplasia ciliar o la enfermedad de Sjogren.

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

- (i) una composición que comprende un compuesto de Fórmula (I) según la reivindicación 1;
- (ii) las instrucciones para:

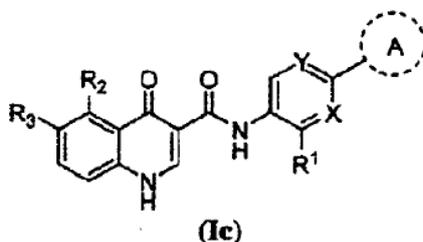
- a) poner en contacto la composición con la muestra biológica;
- b) medir la actividad de dicho CFTR o un fragmento del mismo.

32. El kit según la cláusula 31, que comprende adicionalmente instrucciones para:

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

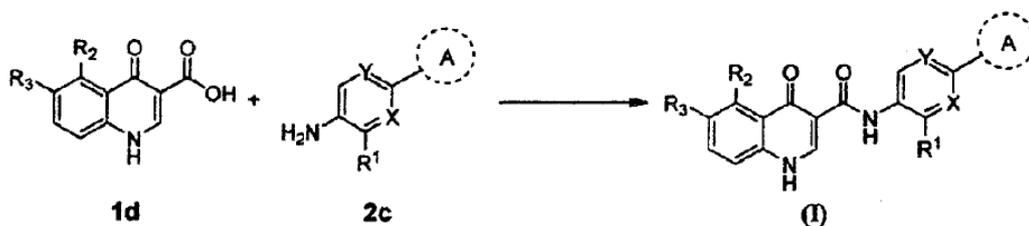
33. Un método para modular la actividad de CFTR en una muestra biológica que comprende la etapa de poner en contacto dicho CFTR con un compuesto según cualquiera de las cláusulas 1-20.

34. Un proceso para preparar un compuesto de Fórmula (Ic):



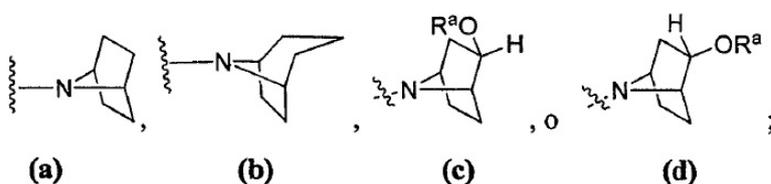
o sales de farmacéuticamente aceptables del mismo, en el que el proceso comprende:

- (a) hacer reaccionar el ácido de fórmula 1d con una amina de fórmula 2c para proporcionar un compuesto de Fórmula (I)



en la que:

el anillo A está seleccionado de entre:



en el que:

- 5  $R^1$  es  $-CH_3$ ,  $-CF_3$  o  $-CN$ ;  
 $R^2$  es hidrógeno,  $-CH_3$ ,  $-CF_3$ ,  $-OH$  o  $-CH_2OH$ ;  
 $R^3$  es hidrógeno,  $-CH_3$ ,  $-OCH_3$  o  $-CN$ ;  
 siempre que  $R^2$  y  $R^3$  no sean simultáneamente hidrógeno, y

- 10  $R^a$  es hidrógeno o un grupo protector de sililo seleccionado del grupo que consiste en trimetilsililo (TMS), *tert*-butildifenilsililo (TBDPS), *tert*-butildimetilsililo (TBDMS), triisopropilsililo (TIPS) y [2-(trimetilsilil)etoxi]metilo (SEM); y uno entre X e Y es nitrógeno y el otro es carbono,

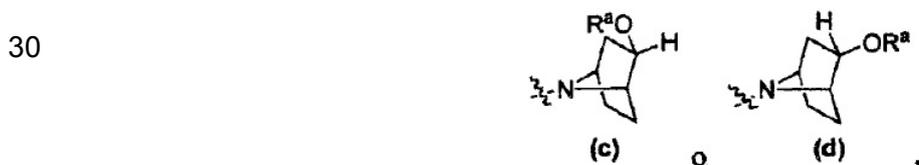
- 15 35. El proceso según la cláusula 34, en el que la reacción del ácido de fórmula **1d** con la amina de fórmula **2c** se produce en un disolvente en presencia de hexafluorofosfato de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio (HATU) y trietilamina o en un disolvente en presencia de anhídrido cíclico del ácido propil fosfónico (T3P®) y piridina.

- 20 36. El proceso según la cláusula 35, en el que el disolvente comprende *N,N*-dimetil formamida, acetato de etilo o 2-metiltetrahidrofurano.

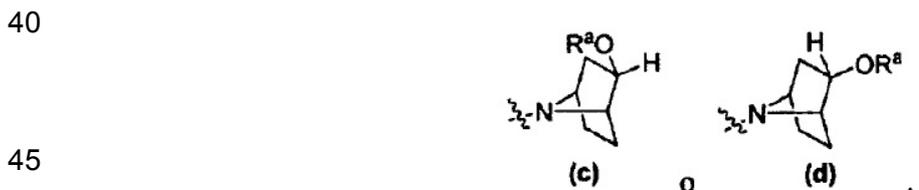
- 25 37. El proceso según la cláusula 34, en el que  $R^a$  es hidrógeno o TBDMS.

- 30 38. El proceso según la cláusula 37, en el que  $R^a$  es TBDMS.

- 35 39. El proceso según la cláusula 34 que comprende adicionalmente una etapa de desprotección para eliminar el grupo protector de sililo cuando el anillo A es

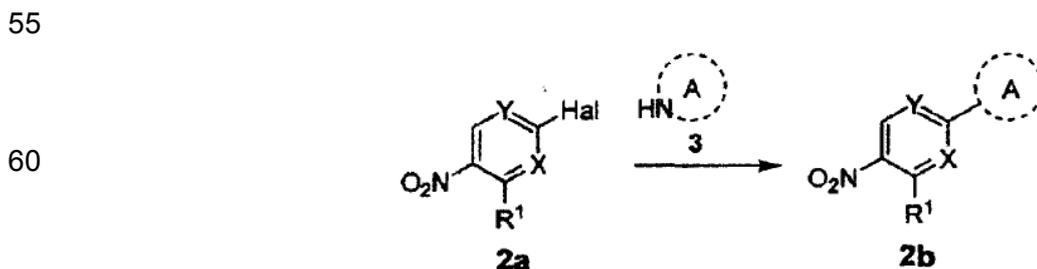


- 35 en el que  $R^a$  es un grupo protector de sililo, para generar un compuesto de Fórmula I, en el que el anillo A es



- 45 40. El proceso según la cláusula 34, en el que la amina de fórmula **2c** se prepara a partir de un compuesto de fórmula **2a** que comprende las etapas de:

- 50 (a) hacer reaccionar el compuesto de fórmula **2a** con una amina de fórmula **3** para proporcionar el compuesto de fórmula **2b**



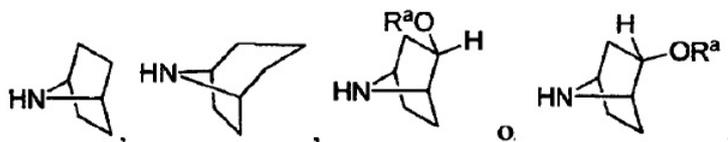
65

en la que:

Hal es F, Cl, Br o I; y

5 la amina de fórmula 3 es

10



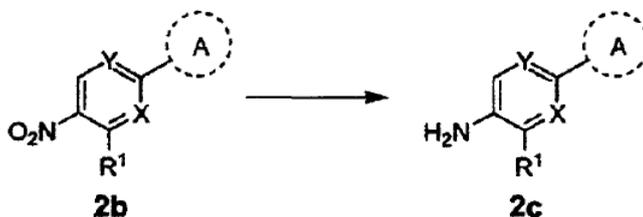
15

y

(b) reducir el compuesto de fórmula 2b a la amina de fórmula 2c.

20

25



30

41. El proceso según la cláusula 40, en el que la amina de fórmula 3 de la etapa (a) se genera *in situ* a partir de la sal clorhidrato de amina.

35

42. El proceso según la cláusula 40, en el que R<sup>a</sup> es hidrógeno o TBDMS.

43. El proceso según la cláusula 42, en el que R<sup>a</sup> es TBDMS.

40

44. El proceso según la cláusula 40, en el que la etapa (a) se produce en un disolvente aprótico polar en presencia de una base amina terciaria.

45. El proceso según la cláusula 44, en el que la etapa (a) se produce en acetonitrilo en presencia de trietilamina.

45

46. El proceso según la cláusula 40, en el que la temperatura de reacción de la etapa (a) es de entre aproximadamente 75°C y aproximadamente 85°C.

47. El proceso según la cláusula 40, en el que el tiempo de reacción es de entre aproximadamente 2 horas y aproximadamente 30 horas.

50

48. El proceso según la cláusula 40, en el que la etapa (b) se produce en un disolvente prótico polar en presencia de un catalizador de paladio.

49. El proceso según la cláusula 48, en el que el disolvente de la etapa (b) comprende metanol o etanol.

55

50. El proceso según la cláusula 40, en el que la etapa (b) se produce en un disolvente prótico polar en presencia de Fe y FeSO<sub>4</sub> o Zn y AcOH.

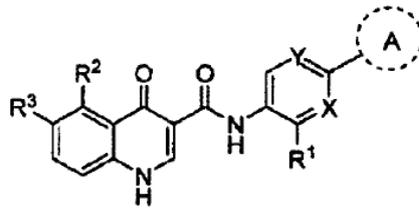
51. El proceso según la cláusula 50, en el que el disolvente prótico polar es agua.

60

52. Un proceso para preparar un compuesto de Fórmula Ic,

65

5



10

**1c**

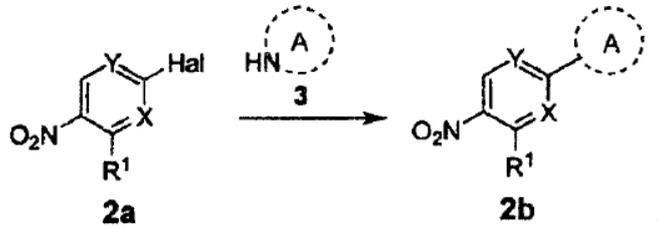
o sales farmacéuticamente aceptables del mismo, que comprende las etapas de:

15

(a) hacer reaccionar un compuesto de fórmula **2a** con una amina de fórmula **3** para proporcionar un compuesto de fórmula **2b**

20

25

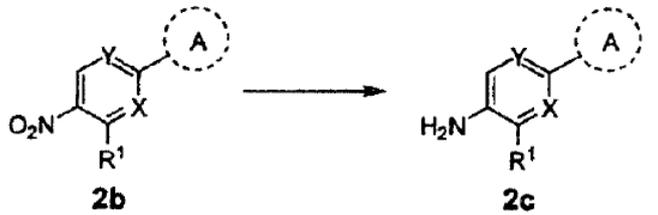


30

(b) convertir el compuesto de fórmula **2b** en la amina de fórmula **2c** mediante hidrogenación

35

40

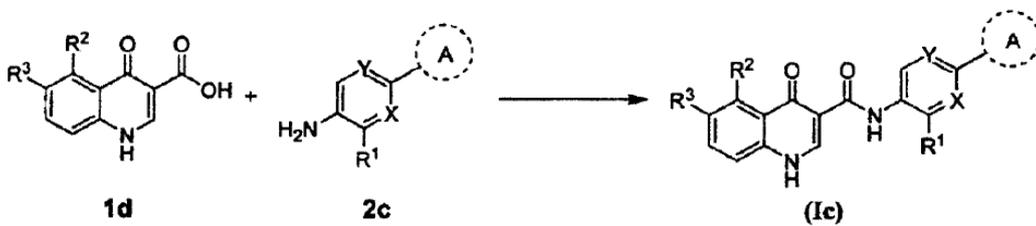


y

45

(c) hacer reaccionar la amina de fórmula **2c** con un ácido de fórmula **1d** para proporcionar un compuesto de Fórmula **1c**

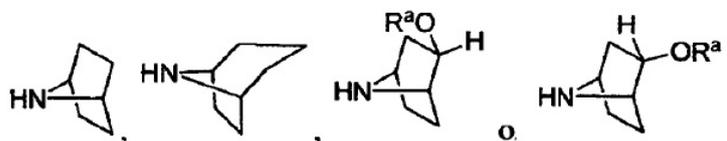
50



55

en la que Hal es F, Cl, Br o I;  
la amina de fórmula **3** es

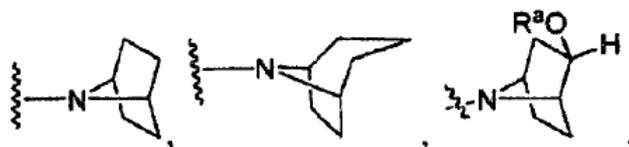
60



65

y  
el anillo A está seleccionado de entre:

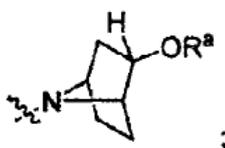
5



10

o

15



20

en el que

25

$R^1$  es  $-CH_3$ ,  $-CF_3$  o  $-CN$ ;  
 $R^2$  es hidrógeno,  $-CH_3$ ,  $-CF_3$ ,  $-OH$  o  $-CH_2OH$ ;  
 $R^3$  es hidrógeno,  $-CH_3$ ,  $-OCH_3$  o  $-CN$ ; siempre que  $R^2$  y  $R^3$  no sean simultáneamente hidrógeno;

30

$R^a$  es hidrógeno o un grupo protector de sililo seleccionado del grupo que consiste en trimetilsililo (TMS), *tert*-butildifenilsililo (TBDPS), *tert*-butildimetilsililo (TBDMS), trisopropilsililo (TIPS) y [2-(trimetilsilil)etoxi]metilo (SEM); y uno entre X e Y es nitrógeno y el otro es carbono.

35

53. El proceso según la cláusula 52, en el que la amina de fórmula 3



40

de la etapa (a) se genera *in situ* a partir de la sal clorhidrato de amina.

54. El proceso según la cláusula 53, en el que  $R^a$  es hidrógeno o TBDMS.

45

55. El proceso según la cláusula 54, en el que  $R^a$  es TBDMS.

56. El proceso según la cláusula 52, en el que la etapa (a) se produce en un disolvente aprótico polar en presencia de una base amina terciaria.

50

57. El proceso según la cláusula 56, en el que la etapa (a) se produce en acetonitrilo en presencia de trietilamina.

58. El proceso según la cláusula 52, en el que la temperatura de reacción de la etapa (a) es de entre aproximadamente  $75^\circ C$  y aproximadamente  $85^\circ C$ .

55

59. El proceso según la cláusula 52, en el que el tiempo de reacción es de entre aproximadamente 2 horas y aproximadamente 30 horas.

60. El proceso según la cláusula 52, en el que la etapa (b) se produce en un disolvente prótico polar en presencia de un catalizador de paladio.

60

61. El proceso según la cláusula 60, en el que el disolvente de la etapa (b) comprende metanol o etanol.

62. El proceso según la cláusula 52, en el que la etapa (b) se produce en un disolvente prótico polar en presencia de Fe y  $FeSO_4$  o Zn y AcOH.

65

63. El proceso según la cláusula 62, en el que el disolvente prótico polar es agua.

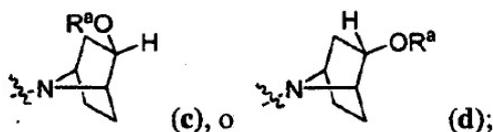
64. El proceso según la cláusula 52, en el que la etapa (c) se produce en un disolvente en presencia de hexafluorofosfato de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio (HATU) y trietilamina o en un disolvente en presencia de anhídrido cíclico del ácido propil fosfónico (T3P®) y piridina.

65. El proceso según la cláusula 64, en el que el disolvente de la etapa (c) comprende *N,N*-dimetil formamida (DMF), acetato de etilo o 2-metiltetrahidrofurano.

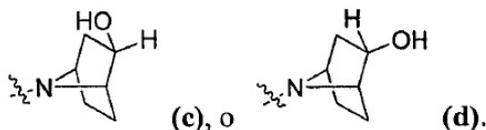
66. El proceso según la cláusula 64, en el que  $R^a$  es hidrógeno o TBDMS.

67. El proceso según la cláusula 66, en el que  $R^a$  es TBDMS.

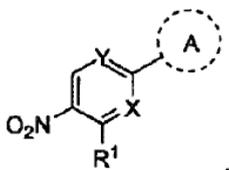
68. El proceso según la cláusula 52 que comprende adicionalmente una reacción de desprotección cuando el anillo A es



en el que  $R^a$  es un grupo protector de sililo, para generar un compuesto de Fórmula I en el que el anillo A es

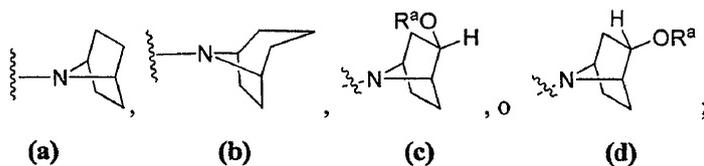


69. Un compuesto que es



en el que

el anillo A está seleccionado de entre:



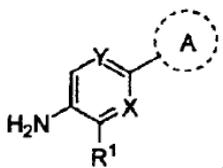
en el que:

$R^1$  es  $-CH_3$ ,  $-CF_3$  o  $-CN$ ;

$R^a$  es hidrógeno o un grupo protector de sililo seleccionado del grupo que consiste en trimetilsililo (TMS), *tert*-butildifenilsililo (TBDPS), *tert*-butildimetilsililo (TBDMS), triisopropilsililo (TIPS) y [2-(trimetilsilil)etoxi]metilo (SEM); y uno entre X e Y es nitrógeno y el otro es carbono.

70. Un compuesto que es

5

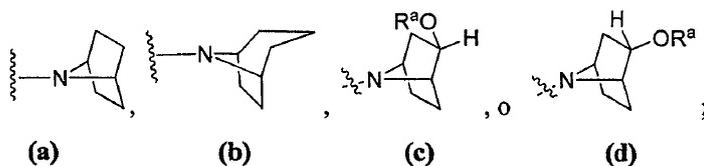


10

en el que

el anillo A está seleccionado de entre:

15



20

25

en el que:

$R^1$  es  $-CH_3$ ,  $-CF_3$  o  $-CN$ ;

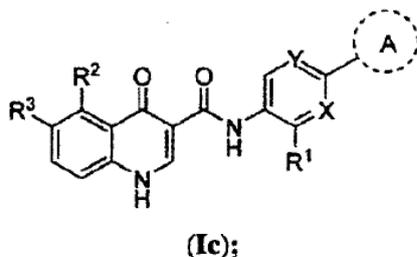
30

$R^a$  es hidrógeno o un grupo protector de sililo seleccionado del grupo que consiste en trimetilsililo (TMS), *tert*-butildifenilsililo (TBDPS), *tert*-butildimetilsililo (TBDMS), trisopropilsililo (TIPS) y [2-(trimetilsilil)etoxi]metilo (SEM); y

uno entre X e Y es nitrógeno y el otro es carbono.

35 71. Un compuesto de Fórmula Ic

40



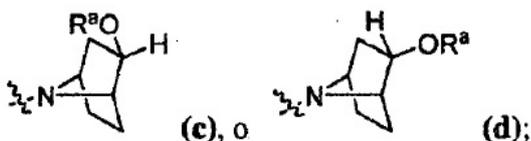
45

o sales farmacéuticamente aceptables del mismo, en la que:

50

el anillo A está seleccionado de entre

55



60

en el que  $R^1$  es  $-CH_3$ ,  $-CF_3$  o  $-CN$ ;

65

$R^2$  es hidrógeno,  $-CH_3$ ,  $-CF_3$ ,  $-OH$  o  $-CH_2OH$ ;

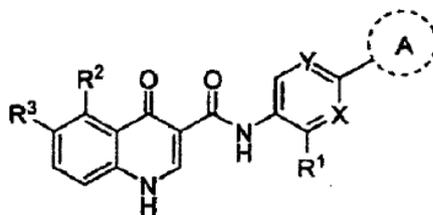
$R^3$  es hidrógeno,  $-CH_3$ ,  $-OCH_3$  o  $-CN$ ;

siempre que  $R^2$  y  $R^3$  no sean simultáneamente hidrógeno, y

R<sup>a</sup> es un grupo protector de sililo seleccionado del grupo que consiste en trimetilsililo (TMS), *tert*-butildifenilsililo (TBDPS), *tert*-butildimetilsililo (TBDMS), triisopropilsililo (TIPS) y [2-(trimetilsilil)etoxi]metilo (SEM); y uno entre X e Y es nitrógeno y el otro es carbono.

5 72. Un compuesto de Fórmula I

10



15

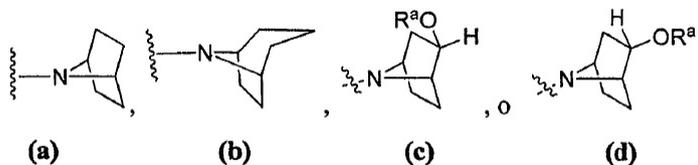
(I);

o sales farmacéuticamente aceptables del mismo, en la que:

20

el anillo A está seleccionado de entre:

25



30

en el que:

35

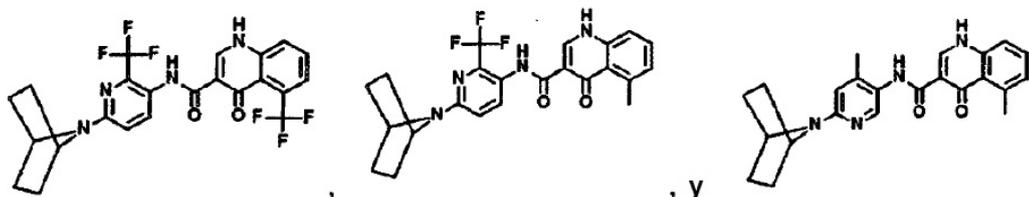
R<sup>1</sup> es -CH<sub>3</sub>, -CF<sub>3</sub> o -CN;  
 R<sup>2</sup> es hidrógeno, -CH<sub>3</sub>, -CF<sub>3</sub>, -OH o -CH<sub>2</sub>OH;  
 R<sup>3</sup> es hidrógeno, -CH<sub>3</sub>, -OCH<sub>3</sub> o -CN;  
 siempre que R<sup>2</sup> y R<sup>3</sup> no sean simultáneamente hidrógeno, y

40

uno entre X e Y es nitrógeno y el otro es carbono,  
 preparado mediante el proceso según cualquiera de las cláusulas de 52-68.

73. Un compuesto que está seleccionado del grupo que consiste en

45



50

55

preparado mediante el proceso según cualquiera de las cláusulas de 52-68.

60

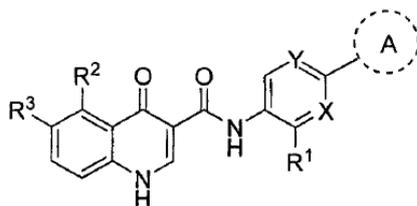
65

REIVINDICACIONES

1. Compuesto de Fórmula I

5

10



(I);

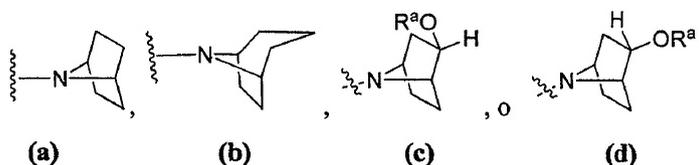
15

o sales farmacéuticamente aceptables del mismo, en la que:

el anillo A está seleccionado de entre:

20

25



30

en el que:

35

R<sup>1</sup> es -CH<sub>3</sub>, -CF<sub>3</sub> o -CN;

R<sup>2</sup> es hidrógeno, -CH<sub>3</sub>, -CF<sub>3</sub>, -OH o -CH<sub>2</sub>OH;

R<sup>3</sup> es hidrógeno, -CH<sub>3</sub>, -OCH<sub>3</sub> o -CN;

R<sup>a</sup> es hidrógeno o un grupo protector de sililo seleccionado del grupo que consiste en trimetilsililo (TMS), *tert*-butildifenilsililo (TBDPS), *tert*-butildimetilsililo (TBDMS), triisopropilsililo (TIPS) y [2-(trimetilsilil)etoxi]metilo (SEM);

40

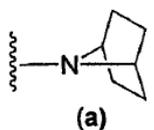
siempre que R<sup>2</sup> y R<sup>3</sup> no sean simultáneamente hidrógeno; y

uno entre X e Y es nitrógeno y el otro es carbono.

45

2. Compuesto según la reivindicación 1, en el que el anillo A es

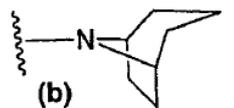
50



55

3. Compuesto según la reivindicación 1, en el que el anillo A es

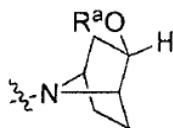
60



4. Compuesto según la reivindicación 1, en el que el anillo A es

65

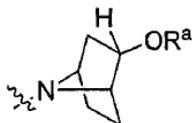
5



(c)

10 5. Compuesto según la reivindicación 1, en el que el anillo A es

15



(d)

20 6. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 2-5, en el que R<sup>1</sup> es -CF<sub>3</sub>.

7. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 2-5, en el que R<sup>1</sup> es -CN.

25 8. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 2-5, en el que R<sup>1</sup> es -CH<sub>3</sub>.

9. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 6-8, en el que R<sup>2</sup> es hidrógeno.

10. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 6-8, en el que R<sup>2</sup> es -CH<sub>3</sub>.

30 11. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 6-8, en el que R<sup>2</sup> es -CF<sub>3</sub>.

12. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 6-8, en el que R<sup>2</sup> es -OH.

35 13. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 6-8, en el que R<sup>2</sup> es -CH<sub>2</sub>OH.

14. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 10-13, en el que R<sup>3</sup> es hidrógeno.

15. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 9-13, en el que R<sup>3</sup> es -CH<sub>3</sub>.

40 16. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 9-13, en el que R<sup>3</sup> es -OCH<sub>3</sub>.

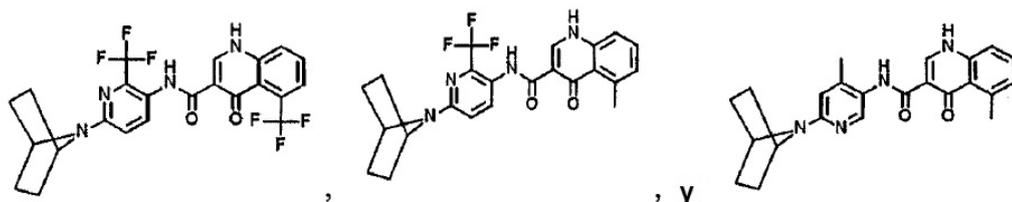
17. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 9-13, en el que R<sup>3</sup> es -CN.

45 18. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-17, en el que X es nitrógeno.

19. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-17 en el que Y es nitrógeno.

20. Compuesto según la reivindicación 1 en el que el compuesto está seleccionado de entre

50



60

21. Composición farmacéutica que comprende un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-20 y un vehículo o adyuvante farmacéuticamente aceptable.

65

22. Composición farmacéutica según la reivindicación 21, que comprende adicionalmente un agente adicional seleccionado de entre un mucolítico, un broncodilatador, un antibiótico, un antiinfeccioso, un antiinflamatorio, un modulador de CFTR distinto de un compuesto de Fórmula (I) o un agente nutricional.

23. Composición farmacéutica según la reivindicación 22, en la que dicho agente adicional es un modulador de CFTR distinto de un compuesto de Fórmula (I).
- 5 24. Compuesto según las reivindicaciones 1 a 20 para su uso en el tratamiento o la reducción de la gravedad de una enfermedad en un paciente, en el que dicha enfermedad está seleccionada de entre la fibrosis quística, el asma, la EPOC inducida por tabaquismo, la bronquitis crónica, la rinosinusitis, el estreñimiento, la pancreatitis, la insuficiencia pancreática, la infertilidad masculina debida a la ausencia bilateral congénita de los conductos deferentes (CBAVD), la enfermedad pulmonar leve, la pancreatitis idiopática, la aspergilosis broncopulmonar alérgica (ABPA), la enfermedad hepática, el enfisema hereditario, la hemocromatosis hereditaria, las deficiencias de coagulación-fibrinólisis, tal como la deficiencia de proteína C, el angioedema hereditario de tipo 1, las deficiencias en el procesamiento de lípidos, tal como la hipercolesterolemia familiar, la quilomicronemia de tipo 1, la abetalipoproteinemia, las enfermedades de depósito lisosomal, tal como la enfermedad de células I/pseudo-Hurler, la mucopolisacaridosis, Sandhof/Tay-Sachs, Crigler-Najjar de tipo II, la poliendocrinopatía/hiperinsulinemia, la diabetes mellitus, el enanismo de Laron, la deficiencia de mieloperoxidasa, el hipoparatiroidismo primario, el melanoma, la glucanosis CDG de tipo 1, el hipertiroidismo congénito, la osteogénesis imperfecta, la hipofibrinogenemia hereditaria, la deficiencia de ACT, la diabetes insípida (DI), la DI neurohipofisaria, la DI nefrogénica, el síndrome de Charcot-Marie Tooth, la enfermedad de Pelizaeus-Merzbacher, enfermedades neurodegenerativas tales como la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson, la esclerosis lateral amiotrófica, la parálisis supranuclear progresiva, la enfermedad de Pick, varios trastornos neurológicos de la poliglutamina tales como el Huntington, la ataxia espinocerebelosa de tipo I, la atrofia muscular espinal y bulbar, la atrofia dentatorubro palidoluisiana y la distrofia miotónica, así como encefalopatías espongiiformes, tales como la enfermedad hereditaria de Creutzfeldt-Jakob (debida a un defecto de procesamiento de proteínas priónicas), la enfermedad de Fabry, el síndrome de Gerstmann-Straussler-Scheinker, la EPOC, la enfermedad del ojo seco, la insuficiencia pancreática, la osteoporosis, la osteopenia, el síndrome de Gorham, las canalopatías de cloruro, la miotonía congénita (formas Thomson y Becker), el síndrome de Bartter de tipo III, la enfermedad de Dent, la hiperekplexia, la epilepsia, la enfermedad de depósito lisosomal, el síndrome de Angelman, la discinesia ciliar primaria (DCP), la DCP con *situs inversus* (también conocida como síndrome de Kartagener), la DCP *sin situs inversus* y la aplasia ciliar o la enfermedad de Sjogren.
- 10 25. Compuesto para su uso según la reivindicación 24, en el que dicha enfermedad es la fibrosis quística.
- 15 26. Compuesto para su uso según la reivindicación 24, en el que dicha enfermedad está asociada con la función reducida de CFTR debida a mutaciones en el gen que codifica el CFTR o factores ambientales, en el que la enfermedad es la fibrosis quística, la bronquitis crónica, la bronquitis recurrente, la bronquitis aguda, la infertilidad masculina debida a ausencia bilateral congénita de los conductos deferentes (CBAVD), la infertilidad femenina debida a la ausencia congénita del útero y la vagina (CAUV), la pancreatitis crónica idiopática (ICP), la pancreatitis recurrente idiopática, la pancreatitis aguda idiopática, la rinosinusitis crónica, la colangitis esclerosante primaria, la diabetes, el ojo seco, el estreñimiento, la aspergilosis broncopulmonar alérgica (ABPA), las enfermedades óseas o el asma.
- 20 27. Compuesto para su uso según la reivindicación 24, en el que dicha enfermedad está asociada con la función normal de CFTR.
- 25 28. Compuesto para su uso según la reivindicación 27, en el que la enfermedad es la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), la bronquitis crónica, la bronquitis recurrente, la bronquitis aguda, la rinosinusitis, el estreñimiento, la pancreatitis crónica, la pancreatitis recurrente, y la pancreatitis aguda, la insuficiencia pancreática, la infertilidad masculina debida a la ausencia bilateral congénita de los conductos deferentes (CBAVD), la enfermedad pulmonar leve, la pancreatitis idiopática, la enfermedad hepática, el enfisema hereditario, los cálculos biliares, la enfermedad por reflujo gastroesofágico, las neoplasias gastrointestinales, la enfermedad inflamatoria intestinal, el estreñimiento, la diabetes, la artritis, la osteoporosis o la osteopenia.
- 30 29. Compuesto para su uso según la reivindicación 27, en el que la enfermedad es la hemocromatosis hereditaria, las deficiencias de la coagulación-fibrinólisis, tal como la deficiencia de proteína C, el angioedema hereditario de tipo 1, las deficiencias en el procesamiento de lípidos, tal como la hipercolesterolemia familiar, la quilomicronemia de tipo 1, la abetalipoproteinemia, las enfermedades de depósito lisosomal, tal como la enfermedad de células I/pseudo-Hurler, la mucopolisacaridosis, Sandhof/Tay-Sachs, Crigler-Najjar de tipo II, la poliendocrinopatía/hiperinsulinemia, la diabetes mellitus, el enanismo de Laron, la deficiencia de mieloperoxidasa, el hipoparatiroidismo primario, el melanoma, la glucanosis CDG de tipo 1, el hipertiroidismo congénito, la osteogénesis imperfecta, la hipofibrinogenemia hereditaria, la deficiencia de ACT, la diabetes insípida (DI), la DI neurohipofisaria, la DI nefrogénica, el síndrome de Charcot-Marie Tooth, la enfermedad de Pelizaeus-Merzbacher, enfermedades neurodegenerativas tales como la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson, la esclerosis lateral amiotrófica, la parálisis supranuclear progresiva, la enfermedad de Pick, varios trastornos neurológicos de la poliglutamina tales como el Huntington, la ataxia espinocerebelosa tipo I, la atrofia muscular espinal y bulbar, la atrofia dentatorubro palidoluisiana y la distrofia miotónica, así como encefalopatías espongiiformes, tales como la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob hereditaria (debida a un defecto de procesamiento de proteínas priónicas), la
- 35 40 45 50 55 60 65

enfermedad de Fabry, el síndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker, el síndrome de Gorham, las canalopatías de cloruro, la miotonía congénita (formas Thomson y Becker), el síndrome de Bartter de tipo III, la enfermedad de Dent, la hiperekplexia, la epilepsia, la enfermedad de depósito lisosomal, el síndrome de Angelman, la discinesia ciliar primaria (DCP), la DCP con *situs inversus* (también conocida como síndrome de Kartagener), la DCP *sin situs inversus* y la aplasia ciliar o la enfermedad de Sjogren.

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

- (i) una composición que comprende un compuesto de Fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1-20;
- (ii) instrucciones para:

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

31. Kit según la reivindicación 30, que comprende adicionalmente instrucciones para:

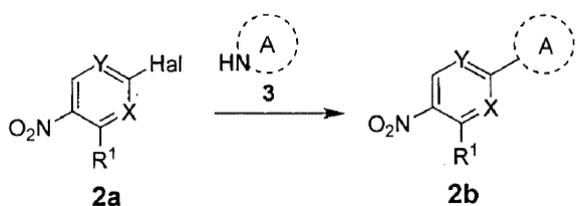
- a) poner en contacto un compuesto adicional con la muestra biológica;
- b) medir la actividad de dicho CFTR o un fragmento del mismo en presencia de dicho compuesto adicional, y
- c) comparar la actividad de CFTR o un fragmento del mismo en presencia del compuesto adicional con la actividad de CFTR o un fragmento del mismo en presencia de una composición que comprende un compuesto de Fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1-20.

32. Kit según la reivindicación 31, en el que la etapa de comparar la actividad de dicho CFTR o fragmento del mismo proporciona una medida de la densidad de dicho CFTR o fragmento del mismo.

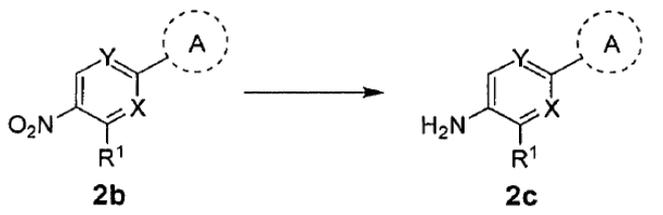
33. Método *in vitro* de modulación de la actividad de CFTR en una muestra biológica que comprende la etapa de poner en contacto dicho CFTR con un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-20.

34. Proceso para preparar un compuesto de Fórmula I o sales farmacéuticamente aceptables del mismo, según la reivindicación 1, que comprende las etapas de:

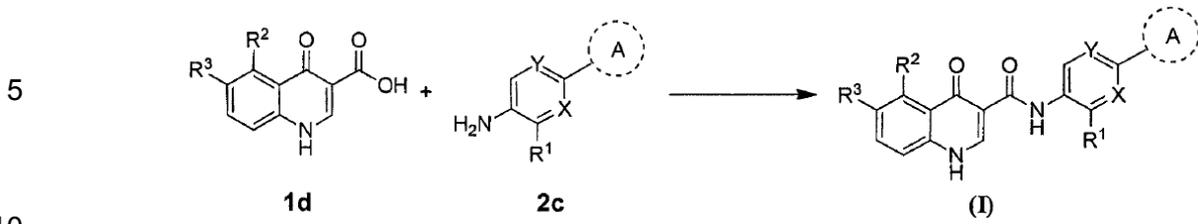
- (a) hacer reaccionar un compuesto de fórmula **2a** con una amina de fórmula **3** para proporcionar un compuesto de fórmula **2b**



- (b) convertir el compuesto de fórmula **2b** en la amina de fórmula **2c** mediante hidrogenación



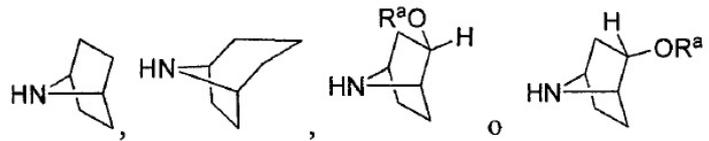
- y
- (c) hacer reaccionar la amina de fórmula **2c** con un ácido de Fórmula Id para proporcionar un compuesto de Fórmula I,



en la que Hal es F, Cl, Br o I; y  
la amina de fórmula 3 es

15

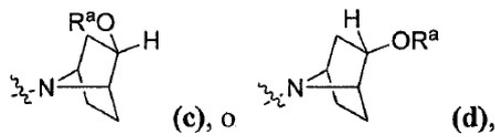
20



25

35. Proceso según la reivindicación 34 que comprende adicionalmente una reacción de desprotección cuando el anillo A es

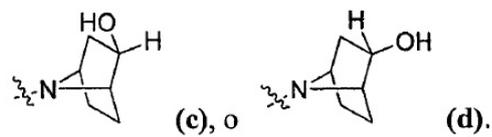
30



35

en el que R<sup>a</sup> es un grupo protector de sililo, para generar un compuesto de Fórmula I en el que el anillo A es

40



45

50

55

60

65