

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 576 643**

51 Int. Cl.:

A61K 31/47 (2006.01)

C07D 217/24 (2006.01)

C07D 401/04 (2006.01)

C07D 401/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.03.2008 E 08726672 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.04.2016 EP 2124562**

54 Título: **Compuestos de bicicloheteroarilo como moduladores de P2X₇ y usos de los mismos**

30 Prioridad:

09.03.2007 US 906049 P 15.03.2007 US 918086 P
15.03.2007 US 918123 P 15.03.2007 US 918261 P
15.03.2007 US 918260 P 20.12.2007 US 8386
20.12.2007 US 8385 20.12.2007 US 8370
10.01.2008 US 10672

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
08.07.2016

73 Titular/es:

SECOND GENOME, INC. (100.0%)
341 Allerton Avenue
South San Francisco, CA 94080, US

72 Inventor/es:

KELLY, MICHAEL, G.;
KINCAID, JOHN;
CAO, YEYU;
KAUB, CARL;
GOWLUGARI, SUMITHRA y
WANG, ZHAN

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 576 643 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

Compuestos de bicloheteroarilo como moduladores de P2X₇ y usos de los mismos

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a compuestos novedosos que incluyen compuestos de la clase bicloheteroarilo que son capaces de modular la actividad del receptor P2X₇, y a composiciones farmacéuticas que contienen tales compuestos. La presente invención también se refiere a tales compuestos y composiciones farmacéuticas para su uso en procedimientos para prevenir y/o tratar afecciones que están relacionadas causalmente con actividad aberrante de P2X₇, tales como afecciones relacionadas con inflamación en mamíferos, que comprenden (pero no se limitan a), artritis reumatoide, osteoartritis, enfermedad de Parkinson, uveítis, asma, afecciones cardiovasculares
10 incluyendo infarto del miocardio, tratamiento y profilaxis de síndrome de dolor (agudo y crónico o neuropático), lesiones cerebrales traumáticas, lesiones agudas de la medula espinal, trastornos neurodegenerativos, enfermedad inflamatoria del intestino y trastornos autoinmunes.

Antecedentes de la invención

15 Los receptores de la superficie celular para el ATP pueden ser divididos en las clases de los metabotrópicos (P2Y/P2U) y de los ionotrópicos (P2X). La clase de los metabotrópicos pertenece a la superfamilia de los receptores acoplados a proteína G, con siete segmentos transmembrana. Los miembros de la clase de los ionotrópicos (P2X₁-P2X₆) son canales de iones transportados por ligandos, corrientemente a través de proteínas multisubunidades con dos dominios transmembrana por subunidad (Buell et al, *Europ. J. Neurosci.* 8:2221 (1996)). Los receptores de P2Z han sido distinguidos de otros receptores P2 en tres formas primarias (Buisman et al, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:7988 (1988); Cockcroft et al, *Nature* 279:541 (1979); Steinberg et al, *J. Biol. Chem.* 262:3118 (1987)). Primero, la actividad de los receptores P2Z lleva no solamente a una corriente iónica entrante, sino también a la permeabilización celular. En segundo lugar, el 3'-O-(4-benzoil)benzoilo ATP (BZATP) es el agonista más efectivo, y el ATP en sí mismo tiene más bien baja potencia. En tercer lugar, las respuestas son inhibidas fuertemente por iones magnesio extracelulares, lo que ha sido interpretado como indicación de que el ATP⁴⁻ es el agonista activo
25 (DiVirgilio, *Immunol. Today* 16:524 (1995)).

Un séptimo miembro de la familia de receptores P2X ha sido aislado de una genoteca de ADNc de rata y, cuando se expresa en células de riñón de embrión humanas (HK293), exhibe las tres propiedades anteriores (Surprenant et al, *Science* 272:735 (1996)). Este receptor (rP2X₇) corresponde así al receptor P2Z. El rP2X₇ está relacionado estructuralmente con otros miembros de la familia de P2X pero tiene un dominio del terminal C citoplasmático más largo (hay una identidad en aminoácidos de 35-40% en la región correspondiente de homología, pero el terminal C es 239 aminoácidos más largo en el receptor rP2X₇ en comparación con los 27-20 aminoácidos en los otros. El receptor rP2X₇ funciona tanto como un canal permeable a cationes pequeños como un poro citoflúico. Aplicaciones breves de ATP (1-2s) abren de manera transiente el canal, como sucede en el caso de otros receptores P2X. Las aplicaciones repetidas o prolongadas del agonista producen la permeabilización reduciendo la concentración de magnesio extracelular que potencia este efecto. El dominio del terminal C único de rP2X₇ es requerido para la permeabilización celular y las acciones líticas del ATP (Surprenant et al., *Science* 272:735 (1996)).
30

El receptor P2Z/rP2X₇ ha sido implicado en la lisis de células que presentan antígenos por linfocitos T citotóxicos, en la estimulación mitogénica de linfocitos T humanos, así como en la formación de células gigantes multinucleadas (Blanchard et al, *Blood* 85:3173 (1995); Falzoni et al, *J. Clin. Invest.* 95:1207 (1995); Baricoidi et al, *Blood* 87:682 (1996)). Existen ciertas diferencias funcionales entre roedores y hombres (Hickman et al, *Blood* 84:2452 (1994)). El receptor P2X₇ de macrófago humano (P2X₇) ha sido donado ahora y se han determinado sus propiedades funcionales (Rassendren et al, *J. Biol. Chem.* 272:5482 (1997)). En comparación con el receptor P2X₇, las corrientes selectivas por cationes provocadas en el receptor P2X₇ humano requirieron concentraciones más altas de agonistas, fueron más potenciadas por la eliminación de iones magnesio extracelulares, y fueron modificadas más rápidamente por eliminación del agonista. La expresión de las moléculas quiméricas indicó que algunas de las diferencias entre los receptores P2X₇ de rata y humano podrían modificarse intercambiando los dominios de terminal C respectivos de las proteínas receptoras.
40

Se ha informado que ciertos compuestos actúan como antagonistas de P2X₇. Por ejemplo, el documento WO 99/29660 y el documento WO 99/29661 divulgan que ciertos derivados de adamantano exhiben actividad antagonista de P2X₇ con eficacia terapéutica en el tratamiento de artritis reumatoide y psoriasis. De la misma manera, el documento WO 99/29686 divulga que ciertos derivados heterocíclicos son antagonistas del receptor P2X₇ y son útiles como agentes inmunosupresores y en el tratamiento de artritis, asma, choque séptico y aterosclerosis. Finalmente, el documento WO 00/71529 divulga ciertos compuestos de fenilo sustituidos que exhiben actividad inmunosupresora. Todas las referencias descritas aquí se incorporan aquí como referencia en su totalidad.
45

55 Existe por lo tanto una necesidad de agentes terapéuticos, y composiciones farmacéuticas correspondientes y procedimientos relacionados de tratamiento, que aborden las afecciones causalmente relacionadas con la actividad aberrante de P2X₇, y es hacia el cumplimiento y satisfacción de esa necesidad, que se dirige la presente invención.

cada R⁴ es seleccionado independientemente de H, alquilo sustituido o no sustituido, alcoxi sustituido o no sustituido, ciano, cidoalquilo sustituido o no sustituido, cicloheteroalquilo sustituido o no sustituido, halo, y hidroxi; R⁵ es metilo;

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de los mismos;

5 y estereoisómeros, variantes isotópicas y tautómeros de los mismos.

En un aspecto adicional, la presente invención provee composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de la invención, y un vehículo, excipiente o diluyente farmacéutico. En este aspecto de la invención, la composición farmacéutica puede comprender uno o más de los compuestos descritos aquí. Además, los compuestos de la presente invención útiles en las composiciones farmacéuticas y procedimientos de tratamiento divulgados aquí, son todos farmacéuticamente aceptables tal como se preparan y usan.

En un aspecto adicional de la invención, esta invención provee compuestos para su uso en un procedimiento de tratamiento de un mamífero susceptible a o afectado con una afección de entre aquellas listadas aquí, y particularmente, tal afección en cuanto puede estar asociada por ejemplo, con inflamación, artritis reumatoide, osteoartritis, uveítis, asma, infarto del miocardio, lesión cerebral traumática; choque séptico, aterosclerosis, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), lesión aguda de la médula espinal, enfermedad inflamatoria del intestino y disfunción inmune, incluyendo trastornos inmunes, procedimiento que comprende administrar una cantidad efectiva de una o más de las composiciones farmacéuticas que se acaban de describir.

En aun otro aspecto, está invención provee compuestos para su uso en un procedimiento de tratamiento de un mamífero susceptible a o afligido con una afección que está relacionada causalmente con actividad aberrante del receptor P2X₇, y que por ejemplo, da lugar a respuestas de dolor o que se relaciona con desbalances en el mantenimiento de la actividad basal de los nervios sensoriales. Los compuestos de amina de la invención tienen uso como analgésicos para el tratamiento de dolor de diversas génesis o etiologías, por ejemplo dolor inflamatorio agudo (tal como un dolor asociado con osteoartritis o artritis reumatoide); diversos síndromes de dolor neuropático (tales como neuralgia postherpética, neuralgia trigeminal, distrofia de reflejo simpático, neuropatía diabética, síndrome de Guillian-Barré, fibromialgia, dolor de extremidades fantasma, dolor postmasectomía, neuropatía periférica, neuropatía por VIH, y neuropatías inducidas por quimioterapia y otras iatrogénicas); dolor visceral (tal como el asociado con enfermedad de reflejo gastroesofágico, síndrome de intestino irritable, síndrome de intestino inflamatorio, pancreatitis y diversos trastornos ginecológicos y urológicos), dolor dental y dolor de cabeza (tal como migraña, dolor de cabeza en racimo y dolor de cabeza por tensión).

En aspectos adicionales, está invención provee compuestos para su uso en procedimientos de tratamiento de un mamífero susceptible a o afligido con afecciones que están relacionadas causalmente con actividad anormal del receptor P2X₇, tales como enfermedades neurodegenerativas y trastornos que incluyen, por ejemplo, enfermedad de Parkinson, esclerosis múltiple; enfermedades y trastornos que son mediados por o dan como resultado una neuroinflamación tal como, por ejemplo, lesión cerebral traumática y encefalitis; enfermedades neuropsiquiátricas mediadas centralmente y trastornos tales como, por ejemplo, manía por depresión, enfermedad bipolar, ansiedad, esquizofrenia, trastornos de la alimentación, trastornos del sueño y trastornos cognitivos; epilepsia y trastornos por ataques; disfunción de la próstata, vejiga e intestino tales como por ejemplo, incontinencia urinaria, dificultad urinaria, hipersensibilidad rectal, incontinencia fecal, hipertrofia prostática benigna y enfermedad inflamatoria del intestino; enfermedades y trastornos respiratorios y de las vías respiratorias, tales como, por ejemplo, rinitis alérgica, asma y enfermedad reactiva de las vías respiratorias y enfermedad pulmonar obstructiva crónica; enfermedades y trastornos que son mediados por o dan como resultado inflamación, tales como, por ejemplo, artritis reumatoide y osteoartritis, infarto del miocardio, diversas enfermedades y trastornos autoinmunes, uveítis y aterosclerosis; picazón/prurito tales como, por ejemplo psoriasis; obesidad; trastornos lipídicos; cáncer, presión sanguínea; lesión de la médula espinal; y trastornos cardiovasculares y renales. El procedimiento comprende administrar una cantidad efectiva para el tratamiento de la afección o prevención de la afección de una o más de las composiciones farmacéuticas que se acaban de describir.

En aspectos adicionales, está invención provee procedimientos para sintetizar los compuestos de la invención, con protocolos de síntesis representativos y rutas divulgadas aquí más adelante.

De acuerdo con lo anterior, es un objetivo principal de esta invención proveer una serie novedosa de compuestos, los cuales pueden ser utilizados para modificar la actividad del receptor P2X₇ y así evitar o tratar cualquier enfermedad que pueda estar relacionada causalmente con la misma.

Es adicionalmente un objetivo de esta invención proveer una serie de compuestos que pueden ser utilizados para tratar o aliviar enfermedades o síntomas de las mismas, tales como dolor e inflamación, que pueden estar relacionados causalmente con la activación del receptor P2X₇,

55 Un objetivo todavía adicional de esta invención es proveer composiciones farmacéuticas que sean efectivas para su uso en el tratamiento o prevención de una variedad de estados de enfermedad, incluyendo las enfermedades asociadas con el sistema nervioso central, afecciones cardiovasculares, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), enfermedad inflamatoria del intestino, artritis reumatoide, osteoartritis y otras enfermedades en las que está

presente un componente inflamatorio.

Además de los procedimientos de tratamiento fijados más arriba, la presente invención se extiende al uso de cualquiera de los compuestos de la invención para la preparación de medicamentos o como medicamentos, que pueden ser administrados para tales tratamientos, así como con tales compuestos para los tratamientos divulgados y especificados.

Otros objetivos y ventajas serán evidentes para los experimentados en el arte a partir de una consideración de la descripción detallada que sigue.

Descripción detallada de la invención

Definiciones

Se pretende que los siguientes términos tengan los significados presentados con los mismos a continuación y sean útiles en el entendimiento de la descripción y el ámbito previsto de la presente invención.

Cuando se describen los compuestos, composiciones farmacéuticas que contienen tales compuestos y procedimientos de uso de tales compuestos y composiciones, los siguientes términos tienen los siguientes significados a menos que se indique otra cosa. Debe entenderse adicionalmente que los términos "grupos" y "radicales" pueden considerarse intercambiables cuando se utilizan aquí.

Los artículos "un" y "una" pueden ser utilizados aquí para referirse a uno o a más de uno (esto es, al menos uno) de los objetos gramaticales del artículo. A manera de ejemplo "un análogo" significa un análogo o más de un análogo.

"Acilo" se refiere a un radical $-C(O)R^{20}$, en el que R^{20} es Hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, cicloheteroalquilo, arilo, arilalquilo, heteroalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo tal como se define aquí. Ejemplos representativos incluyen, pero no se limitan a, fomilo, acetilo, ciclohexilcarbonilo, ciclohexilmetilcarbonilo, benzoilo, bencilcarbonilo y similares.

"Acilamino" se refiere a un radical $-NR^{21}C(O)R^{22}$, en el que R^{21} es Hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, cicloheteroalquilo, arilo, arilalquilo, heteroalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo y R^{22} es Hidrógeno, alquilo, alcoxi, cicloalquilo, cicloheteroalquilo, arilo, arilalquilo, heteroalquilo, heteroaril o heteroarilalquilo, tal como se define aquí. Ejemplos representativos incluyen, pero no se limitan a, fomilamino, acetilamino, ciclohexilcarbonilamino, ciclohexilmetilcarbonilamino, benzoilamino, bencilcarbonilamino y similares.

"Alcoxi" se refiere al grupo $-OC(O)R^{23}$ en el que R^{23} es Hidrógeno, alquilo, aril o cicloalquilo.

"Alqueno sustituido" se refiere a aquellos grupos citados en la definición de "sustituido" aquí, y particularmente se refiere a un grupo alqueno que tiene 1 o más sustituyentes, por ejemplo de 1 a 5 sustituyentes, y particularmente de 1 a 3 sustituyentes, seleccionados del grupo consistente de acilo, acilamino, aciloxi, alcoxi, alcoxi sustituido, alcoxycarbonilo, alcoxycarbonilamino, amino, amino sustituido, aminocarbonilo, aminocarbonilamino, aminocarboniloxi, arilo, ariloxi, azido, carboxilo, ciano, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, halógeno, hidroxilo, ceto, nitro, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, tioariloxi, tioceto, tiol, alquil-S(O)-, aril-S(O)-, alquil-S(O)₂- y aril-S(O)₂-.

"Alcoxi" se refiere al grupo $-OR^{24}$ en el que R^{24} es alquilo. Alcoxi de ejemplo incluye metoxi, etoxi, n-propoxi, i-propoxi, n-butoxi, y heptoxi. Grupos alcoxi particulares son alcoxi inferior, esto es, con entre 1 y 6 átomos de carbono.

"Alcoxi sustituido" se refiere a aquellos grupos citados en la definición de "sustituido" aquí, y se refiere particularmente a un grupo alcoxi que tienen uno o más sustituyentes, por ejemplo de 1 a 5 sustituyentes, y particularmente de 1 a 3 sustituyentes, seleccionados del grupo consistente de acilo, acilamino, aciloxi, alcoxi, alcoxi sustituido, alcoxycarbonilo, alcoxycarbonilamino, amino, amino sustituido, aminocarbonilo, aminocarbonilamino, aminocarboniloxi, arilo, ariloxi, azido, carboxilo, ciano, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, halógeno, heteroarilo, hidroxilo, ceto, nitro, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, tioariloxi, tioceto, tiol, alquil-S(O)-, aril-S(O)-, alquil-S(O)₂- y aril-S(O)₂-.

"Alcoxycarbonilamino" se refiere al grupo $-NR^{25}C(O)OR^{26}$, en el que R^{25} es Hidrógeno, alquilo, aril o cicloalquilo, y R^{26} es alquilo o cicloalquilo.

"Alquilo" se refiere a grupos radicales alcano saturados monovalentes que tienen particularmente hasta 11 átomos de carbono, más particularmente como un alquilo inferior, de 1 a 8 átomos de carbono y todavía más particularmente de 1 a 6 átomos de carbono. La cadena de hidrocarburo puede ser bien de cadena recta o ramificada. Este término es ejemplificado por grupos tales como metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, iso-butilo, tert-butilo, n-hexilo, n-octilo, tert-octilo y similares. El término "alquilo inferior" se refiere a grupos alquilo que tienen de 1 a 6 átomos de carbono.

"Alquilo sustituido" se refiere a aquellos grupos citados en la definición de "sustituido" aquí, y se refieren particularmente a un grupo alquilo que tiene 1 o más sustituyentes, por ejemplo de 1 a 5 sustituyentes, y particularmente de 1 a 3 sustituyentes, seleccionados del grupo consistente de acilo, acilamino, aciloxi, alcoxi, alcoxi

sustituido, alcóxicarbonilo, alcóxicarbonilamino, amino, amino sustituido, aminocarbonilo, aminocarbonilamino, aminocarboniloxi, arilo, ariloxi, azido, carboxilo, ciano, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, halógeno, hidroxilo, heteroarilo, ceto, nitro, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, tioariloxi, tioceto, tiol, alquil-S(O)-, aril-S(O)-, alquil-S(O)₂- y aril-S(O)₂-.

- 5 “Alquileo” se refiere a grupos radicales alquenos saturados divalentes que tienen de 1 a 11 átomos de carbono y más particularmente de 1 a 6 átomos de carbono los cuales pueden ser de cadena recta o ramificada. Este término esta ejemplificado por grupos tales como metileno (-CH₂-), etileno (-CH₂CH₂-), los isómeros de propileno (por ejemplo, -CH₂CH₂CH₂- y -CH(CH₃)CH₂-) y similares.

- 10 “Alquileo sustituido” se refiere a aquellos grupos citados en la definición “sustituido” aquí, y particularmente se refiere a un grupo alquileo que tiene uno o más sustituyentes, por ejemplo 1 a 5 sustituyentes y particularmente de 1 a 3 sustituyentes, seleccionados del grupo consistente de acilo, acilamino, aciloxi, alcoxi, alcoxi sustituido, alcóxicarbonilo, alcóxicarbonilamino, amino, amino sustituido, aminocarbonilo, amino-carbonilamino, aminocarboniloxi, arilo, ariloxi, azido, carboxilo, ciano, halógeno, hidroxilo, ceto, nitro, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, tioariloxi, tioceto, tiol, alquil-S(O)-, aril-S(O)-, alquil-S(O)₂- y aril-S(O)₂-.

- 15 “Alqueno” se refiere a grupos hidrocarbilo olefinicamente insaturados monovalentes que tienen preferiblemente 2 a 11 átomos de carbono, particularmente de 2 a 8 átomos de carbono, y más particularmente de 2 a 6 átomos de carbono, los cuales pueden ser de cadena recta o ramificada y tienen al menos 1 y particularmente de 1 a 2 sitios de insaturación olefinica. Grupos alqueno particulares incluyen etenilo (-CH=CH₂), *n*-propenilo (-CH₂CH=CH₂), isopropenilo (-C(CH₃)=CH₂), vinilo y vinilo sustituido, y similares.

- 20 “Alqueno” se refiere a grupos hidrocarbilo insaturados olefinicamente divalentes que tienen particularmente hasta aproximadamente 11 átomos de carbono y más particularmente de 2 a 6 átomos de carbono los cuales pueden ser de cadena recta o ramificada y tienen al menos 1 y particularmente de 1 a 2 sitios de insaturación olefinica. Este término está ejemplificado por grupos tales como etenileno (-CH=CH-), los isómeros de propenileno (por ejemplo, -CH=CHCH₂- y -C(CH₃)=CH- y -CH=C(CH₃)-) y similares

- 25 “Alquino” se refiere a grupos hidrocarbilo acetilénicamente o alquínicamente insaturados que tienen particularmente de 2 a 11 átomos de carbono y más particularmente de 2 a 6 átomos de carbono los cuales pueden ser de cadena recta o ramificada y tienen al menos 1 y particularmente de 1 a 2 sitios de insaturación alquínica. Ejemplos no limitantes particulares de grupos alquino incluyen acetilénico, etinilo (C≡CH), propargilo (-CH₂C≡CH), y similares.

- 30 “Alquino sustituido” se refiere a aquellos grupos citados en la definición de “sustituido” aquí, y particularmente se refiere a un grupo alquino que tiene 1 o más sustituyentes, por ejemplo de 1 a 5 sustituyentes, y particularmente de 1 a 3 sustituyentes, seleccionados del grupo consistente de acilo, acilamino, aciloxi, alcoxi, alcoxi sustituido, alcóxicarbonilo, alcóxicarbonilamino, amino, amino sustituido, aminocarbonilo, aminocarbonilamino, aminocarboniloxi, arilo, ariloxi, azido, carboxilo, ciano, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, halógeno, hidroxilo, ceto, nitro, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, tioariloxi, tioceto, tiol, alquil-S(O)-, aril-S(O)-, alquil-S(O)₂- y aril-S(O)₂-.

- 35 “Alcanoilo” o “acilo” tal como se utilizan aquí se refieren al grupo R²⁷-C(O)-, en el que R²⁷ es Hidrógeno o alquilo como se definió más arriba.

- 40 “Arilo” se refiere a un grupo hidrocarburo aromático monovalente derivado de la eliminación de un átomo de hidrógeno de un átomo de carbono sencillo de un sistema de anillo aromático original. Los grupos arilo pueden ser monocíclicos o una estructura de anillos fusionados bicíclica, en donde al menos uno de los anillos es una estructura de anillo aromático que contiene particularmente 6 carbonos. Grupos arilo típicos incluyen, pero no se limitan a, grupos derivados de aceantrileno, acenafileno, acefenantrileno, antraceno, azuleno, benceno, criseno, coroneno, fluoranteno, fluoreno, hexaceno, hexafeno, hexaleno, as-indaceno, s-indaceno, indano, indeno, naftaleno, octaceno, octafeno, octaleno, ovaleno, penta-2,4-dieno, pentaceno, pentaleno, pentafeno, perileno, fenaleno, fenantreno, piceno, pleiadeno, pireno, pirantreno, rubiceno, trifenileno, trinaftaleno y similares. Particularmente, un grupo arilo comprende de 6 a 14 átomos de carbono. Particularmente, el grupo arilo puede contener 6 átomos de carbono. Grupos arilo de ejemplo incluyen fenilo e indan-1-ona.

- 50 “Arilo sustituido” incluye aquellos grupos citados en la definición de “sustituido” aquí, y particularmente se refiere a un grupo arilo que puede ser sustituido opcionalmente con uno o más sustituyentes, por ejemplo de 1 a 5 sustituyentes, particularmente de 1 a 3 sustituyentes, seleccionados del grupo consistente de acilo, acilamino, aciloxi, alqueno, alqueno sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, alcóxicarbonilo, alquilo, alquilo sustituido, alquino, alquino sustituido, amino, amino sustituido, aminocarbonilo, aminocarbonilamino, aminocarboniloxi, arilo, ariloxi, azido, carboxilo, ciano, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, halógeno, hidroxilo, nitro, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, tioariloxi, tiol, alquil-S(O)-, aril-S(O)-, alquil-S(O)₂- y aril-S(O)₂-.

- 55 “Arilo fusionado” se refiere a un arilo que tiene dos de sus carbonos de anillo en común con un segundo anillo arilo o con un anillo alifático.

“Alcarilo” se refiere a un grupo arilo, tal como se definió más arriba, sustituido con uno o más grupos alquilo, como se definió más arriba.

- "Aralquilo" o "arilalquilo" se refiere a un grupo alquilo, tal como se definió más arriba, sustituido con uno o más grupos arilo, como se definió más arriba.
- "Arioxi" se refiere a grupos -O-arilo en donde "arilo" es como se definió más arriba.
- 5 "Alquilamino" se refiere al grupo alquil-NR²⁸R²⁹, en el que cada uno de R²⁸ y R²⁹ son seleccionados independientemente de hidrógeno y alquilo.
- "Ariamino" se refiere al grupo aril-NR³⁰R³¹, en el que cada uno de R³⁰ y R³¹ son seleccionados independientemente de hidrógeno, arilo y heteroarilo.
- "Alcoxi-amino" se refiere a un radical -N(H)OR³² en el que R³² representa un grupo alquilo o cicloalquilo tal como se define aquí.
- 10 "Alcoxicarbonilo" se refiere a un radical -C(O)-alcoxi en el que alcoxi es tal como se define aquí.
- "Alquilarilamino" se refiere a un radical -NR³³R³⁴ en el que R³³ representa un grupo alquilo o cicloalquilo y R³⁴ es un arilo tal como se define aquí.
- "Alquilsulfonilo" se refiere a un radical -S(O)₂R³⁵ en el que R³⁵ es un grupo alquilo o cicloalquilo tal como se define aquí. Ejemplos representativos incluyen, pero no se limitan a, metilsulfonilo, etilsulfonilo, propilsulfonilo, butilsulfonilo y similares.
- 15 "Alquilsulfinito" se refiere a un radical -S(O)R³⁵ en el que R³⁵ es un grupo alquilo o cicloalquilo tal como se define aquí. Ejemplos representativos incluyen, pero no se limitan a, metilsulfinito, etilsulfinito, propilsulfinito, butilsulfinito y similares.
- 20 "Alquiltio" se refiere a un radical -SR³⁵ en el que R³⁵ es un grupo alquilo o cicloalquilo tal como se define aquí que puede estar opcionalmente sustituido tal como se define aquí. Ejemplos representativos incluyen, pero no se limitan a, metiltio, etiltio, propiltio, butiltio, y similares.
- "Amino" se refiere al radical -NH₂.
- "Amino sustituido" se refiere a aquellos grupos citados en la definición de "sustituido" en el presente documento, y particularmente se refiere al grupo -N(R³⁶)₂ en el que cada R³⁶ es seleccionado independientemente del grupo consistente de hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, arilo, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, y en el que ambos grupos R están unidos para formar un grupo alquileno. Cuando grupos R son hidrógeno, -N(R³⁶)₂ es un grupo amino.
- 25 "Aminocarbonilo" se refiere al grupo -C(O)NR³⁷R³⁷ en el que cada R³⁷ es independientemente hidrógeno, alquilo, arilo y cicloalquilo, o en el que los grupos R³⁷ están unidos para formar un grupo alquileno.
- 30 "Aminocarbonilamino" se refiere al grupo -NR³⁸C(O)NR³⁸R³⁸ en el que cada R³⁸ es independientemente hidrógeno, alquilo, aril o cicloalquilo, o en el que dos grupos R están unidos para formar un grupo alquileno.
- "Aminocarboniloxi" se refiere al grupo -OC(O)NR³⁹R³⁹ en el que cada R³⁹ es independientemente hidrógeno, alquilo, arilo o cicloalquilo, o en el que los grupos R están unidos para formar un grupo alquileno.
- "Ari-alquiloxi" se refiere a un radical -O-arilalquilo en el que el radical arilalquilo es tal como se define aquí.
- 35 "Ariamino" significa un radical -NHR⁴⁰ en el que R⁴⁰ representa un grupo arilo tal como se define aquí.
- "Arioxicarbonilo" se refiere a un radical -C(O)-O-aril en el que arilo es tal como se define aquí.
- "Ari-sulfonilo" se refiere a un radical -S(O)₂R⁴¹ en el que R⁴¹ es un grupo arilo o heteroarilo tal como se define aquí.
- "Azido" se refiere al radical -N₃.
- 40 "Bicicloarilo" se refiere a un grupo hidrocarburo aromático monovalente derivado de la eliminación de un átomo de hidrógeno de un átomo de carbono sencillo de un sistema de anillo bicicloaromático original. Grupos bicicloarilo típicos incluyen pero no se limitan a, grupos derivados de indano, indeno, naftaleno, tetrahidronaftaleno, y similares. En particular, un grupo arilo comprende de 8 a 11 átomos de carbono.
- 45 "Bicicloheteroarilo" se refiere a un grupo bicicloheteroaromático monovalente derivado de la eliminación de un átomo de hidrógeno de un átomo sencillo de un sistema de anillo bicicloheteroaromático original. Grupos bicicloheteroarilo típicos incluyen, pero no se limitan a, grupos derivados de benzofurano, bencimidazol, bencindazol, benzodioxano, cromeno, cromano, cinolina, ftalazina, indol, indolina, indolizina, isobenzofurano, isocromeno, isoindol, isoindolina, isoquinolina, benzotiazol, benzoxazol, nafiridina, benzoxadiazol, pteridina, purina, benzopirano, benzpirazina, piridopirimidina, quinazolina, quinolina, quinolizina, quinoxalina, benzomorfolano, tetrahidroisoquinolina, tetrahidroquinolina, y similares. Preferiblemente, el grupo bicicloheteroarilo está entre bicicloheteroarilo de 9-11

miembros, siendo preferido un heteroarilo de 5-10 miembros. Grupos bicicloheteroarilo particulares son aquellos derivados de benzotiofeno, benzofurano, benzotiazol, indol, quinolina, isoquinolina, bencimidazol, benzoxazol y benzodioxano.

5 "Carbamoilo" se refiere al radical $-C(O)N(R^{42})_2$ en el que cada grupo R^{42} es independientemente hidrógeno, alquilo, cicloalquilo o arilo, tal como se define aquí, el cual puede estar sustituido opcionalmente tal como se define aquí. En una realización específica, el término "carbamoilo" se refiere a $-C(O)-NH_2$. En una realización alternativa "carbamoilo alquilo inferior" significa el radical NH_2Col alquilo inferior-. Grupos carbamoilo alquilo inferior particulares incluyen carbamoiletilo y carbamoilmetilo.

"Carboxi" se refiere al radical $-C(O)OH$.

10 "Carboxiamino" se refiere al radical $-N(H)C(O)OH$.

"Compuestos de la presente invención", y expresiones equivalentes, pretenden abarcar los compuestos tal como se describieron aquí anteriormente, en particular compuestos de acuerdo con cualquiera de las fórmulas citadas y/o descritas aquí, expresión que incluye los profármacos, las sales farmacéuticamente aceptables y los solvatos, por ejemplo hidratos, donde el contexto así lo permite. De manera similar, referencias a productos intermedios, sean o no reivindicados en sí mismos, pretenden abarcar sus sales y solvatos, donde el contexto así lo permite.

15 "Cicloalquilalquilo" se refiere a un radical en el cual un grupo cicloalquilo sustituye un átomo de hidrógeno de un grupo alquilo. Grupos cicloalquilalquilo típicos incluyen, pero no se limitan a ciclopropilmetilo, ciclobutilmetilo, ciclopentilmetilo, ciclohexilmetilo, cicloheptilmetilo, ciclooctilmetilo, ciclopropiletilo, ciclobutiletilo, ciclopentiletilo, ciclohexiletilo, cicloheptiletilo, y ciclooctiletilo, y similares.

20 "Heterocicloalquilalquilo" se refiere a un radical en el cual un grupo heterocicloalquilalquilo sustituye un átomo de hidrógeno de un grupo alquilo. Grupos heterocicloalquilalquilo típicos incluyen, pero no se limitan a, pirrolidinilmetilo, piperidinilmetilo, piperazinilmetilo, morfolinilmetilo, pirrolidiniletilo, piperidiniletilo, piperaziniletilo, morfoliniletilo, y similares.

"Halo" o "halógeno" significa fluoro (F), cloro (Cl), bromo (Br), o yodo (I).

25 "Hidrógeno" significan el contexto de un sustituyente que -H está presente en la posición del compuesto y también incluye su isotopo, deuterio.

"Alcanoilamino inferior" significa un grupo amino con un grupo funcional orgánico $R-CO-$, en donde R representa un grupo alquilo inferior.

30 "Alcoxi inferior" significa de 1 a 6 átomos de carbono en una cadena alquilo lineal que puede ser recta o ramificada, y que está enlazada por un átomo de oxígeno.

"Alquilo sulfonamida inferior" se refiere a un alquilo amida inferior de sulfonamida de la fórmula $-SO_2NR^*R^*$, donde R^* es hidrógeno o alquilo inferior y al menos un R^* es alquilo inferior.

35 "Cicloalquilo" se refiere a grupos hidrocarbilo cíclicos que tienen de 3 a aproximadamente 10 átomos de carbono y tienen un anillo cíclico sencillo o anillos condensados múltiples, incluyendo sistemas de anillo fusionados y con puentes, los cuales opcionalmente pueden estar sustituidos con 1 a 3 grupos alquilo. Tales grupos cicloalquilo incluyen, a manera de ejemplo, estructuras de anillo individuales tales como ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclooctilo, 1-metilciclopropilo, 2-metilciclopentilo, 2-metilciclooctilo, y similares, y múltiples estructuras de anillo tales como adamantilo, y similares. Grupos cicloalquilo particulares tienen entre 4 y 7 carbonos miembros de anillo por ejemplo ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo y cicloheptilo.

40 "Cicloalquilo sustituido" incluye aquellos grupos citados en la definición de "sustituido" aquí y particularmente se refiere a un grupo cicloalquilo que tiene 1 o más sustituyentes, por ejemplo 1 a 5 sustituyentes, y particularmente de 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste de acilo, acilamino, aciloxi, alcoxi, alcoxi sustituido, alcoxicarbonilo, alcoxicarbonilamino, amino, amino sustituido, aminocarbonilo, aminocarbonilamino, aminocarboniloxi, arilo, ariloxi, azido, carboxilo, ciano, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, halógeno, hidroxilo, ceto, nitro, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, tioariloxi, tioceto, tiol, alquil-S(O)-, aril-S(O)-, alquil-S(O)₂- y aril-S(O)₂-.

45 "Cicloalcoxi" se refiere al grupo $-OR^{43}$ en el que R^{43} es Cicloalquilo. Tales grupos cicloalcoxi incluyen, a manera de ejemplo, ciclopentoxi, ciclohexoxi y similares.

50 "Cicloalquenilo" se refiere a grupos hidrocarbilo cíclicos que tienen de 3 a 10 átomos de carbono y que tienen un anillo cíclico sencillo o anillos condensados múltiples, incluyendo sistemas de anillo fusionados y con puentes y que tienen al menos uno y particularmente de 1 a 2 sitios de insaturación olefínica. Tales grupos cicloalquenilo incluyen, a manera de ejemplo, estructuras de anillo simple tales como ciclohexenilo, ciclopentenilo, ciclopropenilo, y similares.

"Cicloalquenilo sustituido" se refiere a aquellos grupos citados en la definición de "sustituido" aquí, y particularmente

se refiere a un grupo cicloalquenilo que tiene 1 o más sustituyentes, por ejemplo de 1 a 5 sustituyentes, y particularmente de 1 a 3 sustituyentes, seleccionados del grupo consistente de acilo, acilamino, aciloxi, alcoxi, alcoxi sustituido, alcocarbonilo, alcocarbonilamino, amino, amino sustituido, aminocarbonilo, aminocarbonilamino, aminocarbonilo, arilo, ariloxi, azido, carboxilo, ciano, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, halógeno, hidroxilo, ceto, nitro, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, tioariloxi, tioceto, tiol, alquil-S(O)-, aril-S(O)-, alquil-S(O)₂- y aril-S(O)₂-.

"Cicloalquenilo fusionado" se refiere a un cicloalquenilo que tiene dos de sus átomos de carbono de anillo en común con un segundo anillo alifático o aromático y que tiene su insaturación olefínica localizada para impartir aromaticidad al anillo cicloalquenilo.

"Cianato" se refiere al radical -OCN.

10 "Ciano" se refiere al radical -CN.

"Dialquilamino" significa un radical -NR⁴R⁴⁵ en el que R⁴ y R⁴⁵ representan independientemente un grupo alquilo, alquilo sustituido, arilo, arilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, cicloheteroalquilo, cicloheteroalquilo sustituido, heteroarilo, o cicloheteroarilo sustituido tal como se define aquí.

"Etenilo" se refiere a -(C=C)- sustituido o no sustituido.

15 "Etileno" se refiere a -(C-C)- sustituido o no sustituido .

"Etilino" se refiere a -(C≡C)-.

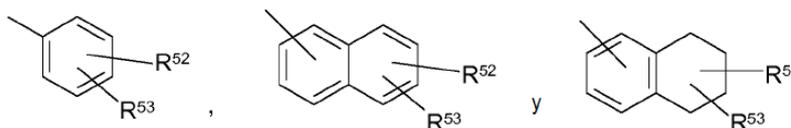
"Halo" o "halógeno" se refiere a fluoro, cloro, bromo y yodo. Grupos halo preferidos son ya sea fluoro o cloro.

"Hidroxi" se refiere al radical -OH.

"Nitro" se refiere al radical -NO₂,

20 "Sustituido" se refiere a un grupo en el cual uno o más átomos de hidrógeno están reemplazados independientemente cada uno con el mismo o diferentes sustituyentes. Sustituyentes típicos incluyen, pero no se limitan a -X, -R⁴⁶, -O-, =O, -OR⁴⁶, -SR⁴⁶, -S=S, -NR⁴⁶R⁴⁷=RMN⁴⁶, -CX₃, -CF₃, -CN, -OCN, -SCN, -NO, -NO₂, =N₂, -N₃, -S(O)₂O-, -S(O)₂OH, -S(O)₂R⁴⁶, -OS(O)₂O-, -OS(O)₂R⁴⁶, -P(O)(O-)₂, -P(O)(OR⁴⁶)(O-), -OP(O)(OR⁴⁶)(OR⁴⁷), -C(O)R⁴⁶, -C(S)R⁴⁶, -C(O)OR⁴⁶, -C(O)NR⁴⁶R⁴⁷, -C(O)O-, -C(S)OR⁴⁶, -NR⁴⁸C(O)NR⁴⁶R⁴⁷, -NR⁴⁸C(S)NR⁴⁶R⁴⁷, -NR⁴⁹C(NR⁴⁸)NR⁴⁶R⁴⁷ y -C(NR⁴⁸)NR⁴⁶R⁴⁷, en los que cada X es independientemente un halógeno; cada R⁴⁶, R⁴⁷, R⁴⁸ y R⁴⁹ son independientemente hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, arilo, arilo sustituido, arilalquilo, alquilo sustituido, cicloalquilo, alquilo sustituido, cicloheteroalquilo, cicloheteroalquilo sustituido, heteroalquilo, heteroalquilo sustituido, heteroarilo, cicloheteroarilo sustituido, heteroarilalquilo, cicloheteroarilalquilo sustituido, -NR⁵⁰R⁵¹, -C(O)R⁵⁰ o -S(O)₂R⁵⁰ u opcionalmente R⁵⁰ y R⁵¹ junto con el átomo al cual están unidos ambos forman un anillo cicloheteroalquilo o cicloheteroalquilo sustituido; y R⁵⁰ y R⁵¹ son independientemente hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, arilo, alquilo sustituido, arilalquilo, alquilo sustituido, cicloalquilo, alquilo sustituido, cicloheteroalquilo, cicloheteroalquilo sustituido, heteroalquilo, heteroalquilo sustituido, heteroarilo, cicloheteroarilo sustituido, heteroarilalquilo o cicloheteroarilalquilo sustituido.

Ejemplos de arilo sustituidos representativos incluyen los siguientes



35 En estas fórmulas uno de R⁵² y R⁵³ pueden ser hidrógeno y al menos uno de R⁵² y R⁵³ es seleccionado independientemente cada uno de alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloheteroalquilo, alcanilo, alcoxi, ariloxi, heteroariloxi, alquilamino, arilamino, heteroarilamino, NR⁵⁴COR⁵⁵, NR⁵⁴SOR⁵⁵, NR⁵⁴SO₂R⁵⁷, COO-alquilo, COO-arilo, CONR⁵⁴R⁵⁵, CONR⁵⁴OR⁵⁵, NR⁵⁴R⁵⁵, SO₂NR⁵⁴R⁵⁵, S-alquilo, S-alquilo, SO-alquilo, SO₂-alquilo, S-arilo, SO-arilo, SO₂-arilo; o R⁵² y R⁵³ pueden estar unidos para formar un anillo cíclico (saturado e insaturado) de 5 a 8 átomos, que contiene opcionalmente uno o más heteroátomos seleccionados del grupo N, O o S. R⁵⁴, R⁵⁵, y R⁵⁶ son independientemente hidrógeno, alquilo, alquenilo, alquinilo, perfluoroalquilo, cicloalquilo, cicloheteroalquilo, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, alquilo sustituido o hetero o similares.

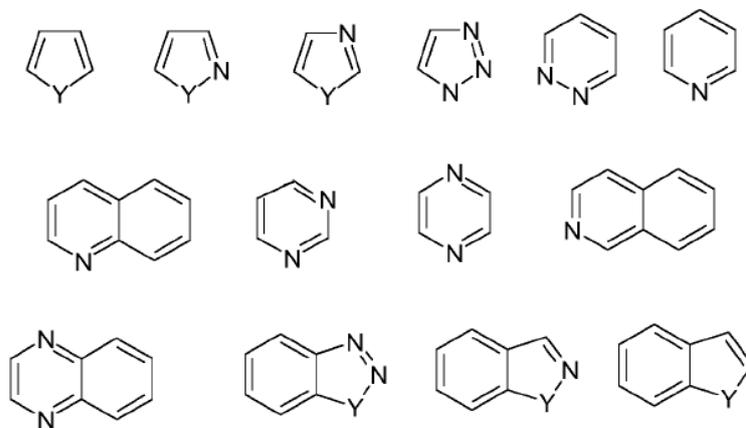
45 "Hetero" cuando se utiliza para describir un compuesto o un grupo presente sobre un compuesto significa que uno o más átomos de carbono en el compuesto o grupo han sido reemplazados por un heteroátomo de nitrógeno, oxígeno o azufre. Hetero puede aplicarse a cualquiera de los grupos hidrocarbilo descritos más arriba tales como alquilo, por ejemplo heteroalquilo, cicloalquilo, por ejemplo heterocicloalquilo, arilo, por ejemplo heteroarilo, cicloalquenilo,

heterocicloalqueno, y similares que tienen de 1 a 5, y especialmente de 1 a 3 heteroátomos.

“Heteroarilo” se refiere a un grupo heteroaromático monovalente derivado por la eliminación de un átomo de hidrógeno de un átomo individual de un sistema de anillo heteroaromático original. El grupo heteroarilo puede ser un grupo monocíclico (en cuyo caso será típicamente un anillo de 5 a 7, más típicamente de 5 o 6 miembros),
 5
 10
 15
 20
 25

alternativamente el grupo heteroarilo puede ser un grupo bicicloheteroarilo en particular un sistema de anillo fusionado que comprende 2 anillos de 5 miembros fusionados, un anillo de 5 y 6 miembros fusionado o dos anillos de 6 miembros fusionados, en donde el grupo heteroarilo comprende anillos fusionados y al menos uno de dichos anillos debería contener un heteroátomo y al menos uno de dichos anillos debería ser aromático (ambos requerimientos pueden o no ser satisfechos en el mismo anillo). El grupo heteroarilo por ejemplo, puede ser un anillo monocíclico de cinco miembros o seis miembros que puede contener hasta aproximadamente 4 heteroátomos seleccionados típicamente de nitrógeno, azufre y oxígeno. Típicamente el anillo heteroarilo contendrá hasta 4 heteroátomos, más típicamente hasta 3 heteroátomos, más usualmente hasta 2, por ejemplo un heteroátomo individual. En una realización, el anillo heteroarilo contiene al menos un átomo de nitrógeno de anillo. Los átomos de nitrógeno en los anillos heteroarilo pueden ser básicos, como en el caso de un imidazol o piridina, o esencialmente no básicos como en el caso de un nitrógeno de indol o pirrol. En general el número de átomos de nitrógeno básicos presentes en el grupo heteroarilo, que incluyen cualquier sustituyente de grupo amino del anillo, será menor de cinco. Grupos heteroarilo típicos incluyen, pero no se limitan a, grupos derivados de acridina, arsindol, carbazol, β -carbolina, cromano, cromeno, cinolina, furano, imidazol, indazol, indol, indolina, indolizina, isobenzofurano, isocromeno, isoindol, isoindolina, isoquinolina, isotiazol, isoxazol, nafiridina, oxadiazol, oxazol, perimidina, fenantridina, fenantrolina, fenazina, ftalazina, pteridina, purina, pirano, pirazina, pirazol, piridazina, piridina, pirimidina, pirrol, pirrolizina, quinazolina, quinolina, quinolizina, quinoxalina, tetrazol, tiadiazol, tiazol, tiofeno, triazol, xanteno y similares. Particularmente, el grupo heteroarilo es heteroarilo entre 5-15 miembros, siendo grupos particulares heteroarilo con 5-10 miembros. Grupos heteroarilo particulares son aquellos derivados de tiofeno, pirrol, benzotiofeno, benzofurano, indol, piridina, quinolina, imidazol, oxazol y pirazina. En particular, ejemplos de grupos heteroarilo de cinco miembros incluyen pero no se limitan a grupos pirrol, furano, tiofeno, imidazol, furazano, oxazol, oxadiazol, oxatriazol, isoxazol, tiazol, isotiazol, pirazol, triazol y tetrazol. Particularmente, ejemplos de grupos heteroarilo de seis miembros incluyen pero no se limitan a piridina, pirazina, piridazina, pirimidina y triazina.

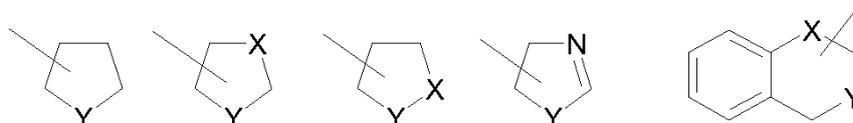
Ejemplos de heteroarilo representativos incluyen los siguientes:

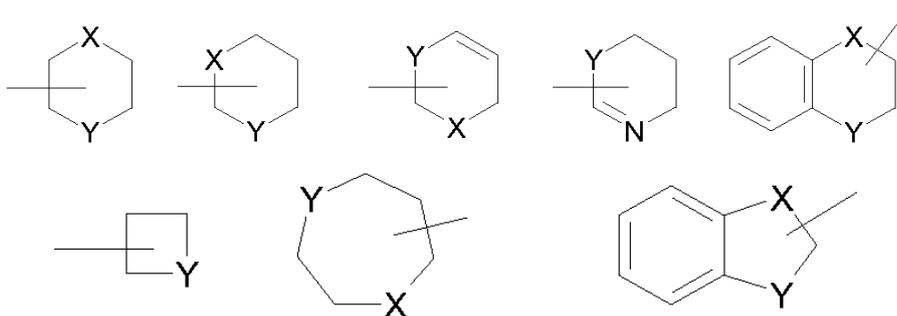


30 en las que Y se selecciona de entre carbonilo, N, RMN⁵⁸, O, y S; y R⁵⁸ es independientemente hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, cicloheteroalquilo, arilo, heteroarilo, heteroalquilo o similares.

Tal como se utiliza aquí, el término “cicloheteroalquilo” se refiere a un anillo no aromático heterocíclico estable y anillos fusionados que contienen uno o más heteroátomos seleccionados independientemente de N, O y S. Un sistema de anillo heterocíclico fusionado puede incluir anillos carbocíclicos y requiere solamente induir un anillo heterocíclico.
 35

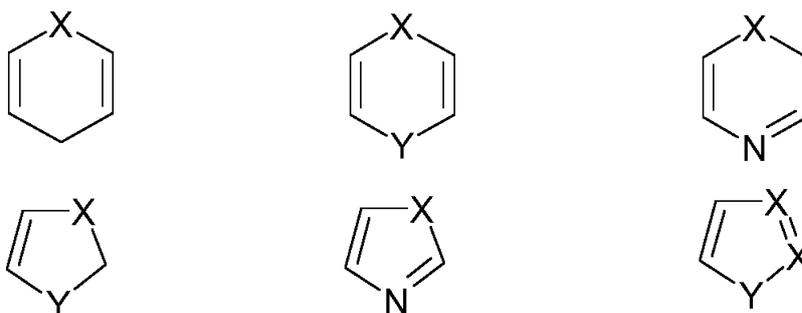
Ejemplos de anillos heteroacíclicos incluyen, pero no se limitan a, piperazinilo, homopiperazinilo, piperidinilo y morfolinilo, y se muestran en los siguientes ejemplos ilustrativos:





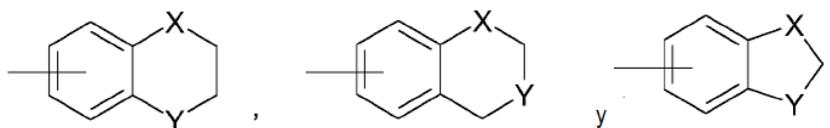
- 5 en los cuales cada X se selecciona de CR^{58} , CR^{58}_2 , NR^{58} , O y S; y cada Y se selecciona de NR^{58} , O y S; y R^{58} es independientemente hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, cicloheteroalquilo, arilo, heteroarilo, heteroalquilo o similares. Estos anillos cicloheteroalquilo pueden ser sustituidos opcionalmente con uno o más grupos seleccionados del grupo consistente de acilo, acilamino, aciloxi, alcoxi, alcoxí sustituido, alcoxycarbonilo, alcoxycarbonilamino, amino, amino sustituido, aminocarbonilo, aminocarbonilamino, aminocarboniloxi, arilo, ariloxi, azido, carboxilo, ciano, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, halógeno, hidroxilo, ceto, nitro, tioalcoxi, tioalcoxí sustituido, tioariloxi, tioceto, tiol, alquil-S(O)-, aril-S(O)-, alquil-S(O)₂- y aril-S(O)₂-. Grupos sustituyentes incluyen carbonilo o tiocarbonilo los cuales proveen, por ejemplo, derivados lactama y urea.

Ejemplos de cicloheteroalquenos representativos incluyen los siguientes:



- 15 en los cuales X se selecciona de CR^{58} , CR^{58}_2 , NR^{58} , O y S; y cada Y se selecciona de carbonilo, N, NR^{58} , O y S; y R^{58} es independientemente hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, cicloheteroalquilo, arilo, heteroarilo, heteroalquilo o similares.

Ejemplos de arilos representativos que tienen heteroátomos que contienen sustitución incluyen los siguientes:



- 20 en los cuales X se selecciona de CR^{58}_2 , NR^{58} , O y S; y cada Y se selecciona de carbonilo, NR^{58} , O y S; y R^{58} es independientemente hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, cicloheteroalquilo, arilo, heteroarilo, heteroalquilo o similares.

- 25 "Hetero sustituyentes" se refiere a una funcionalidad que contiene átomos de halo, O, S o N que puede estar presente como un R^4 en un grupo R^4C presentes como sustituyentes directamente sobre W o Z de los compuestos provistos aquí o puede estar presente como un sustituyente en los grupos arilo y alifático "sustituidos" presentes en los compuestos. Ejemplos de hetero sustituyentes incluyen:

-halo,

$-NO_2$, $-NH_2$, $-NHR^{59}$, $-N(R^{59})_2$,

$-NRCOR$, $-NR^{59}SOR^{59}$, $-NR^{59}SO_2R^{59}$, OH, CN,

-CO₂H,

-R⁵⁹-OH, -O-R⁵⁹, -COOR⁵⁹,

-CON(R⁵⁹)₂, -CONROR⁵⁹,

-SO₃H, -R⁵⁹-S, SO₂N(R⁵⁹)₂,

5 -S(O)R⁵⁹, -S(O)2R⁵⁹

en los cuales cada R⁵⁹ es independientemente un arilo o alifático, opcionalmente con sustitución. Entre los sustituyentes hetero que contienen grupos R⁵⁹, se da preferencia a aquellos materiales que tienen grupos arilo y alquilo R⁵⁹ tal como se define aquí. Hetero sustituyentes preferidos son aquellos listados más arriba.

10 Un grupo "donante de enlaces de hidrógeno" se refiere a un grupo que contiene funcionalidad O-H, o N-H. Ejemplos de grupos "donantes de enlaces de hidrógeno" incluyen -OH, -NH₂, y -NH-R^{59a} en el cual R^{59a} es alquilo, acilo, cicloalquilo, arilo, o heteroarilo.

"Dihidroxifosforilo" se refiere al radical -PO(OH)₂.

15 "Dihidroxifosforilo sustituido" se refiere a aquellos grupos citados en la definición de "sustituido" aquí y particularmente se refiere a un radical dihidroxifosforilo en donde uno o ambos grupos hidroxilo están sustituidos. Más abajo se describen en detalle sustituyentes adecuados.

"Aminohidroxifosforilo" se refiere al radical -PO(OH)NH₂.

20 "Aminohidroxifosforilo sustituido" se refiere a aquellos grupos citados en la definición de "sustituido" aquí, y se refiere particularmente a un aminohidroxifosforilo en donde el grupo amino está sustituido con uno o dos sustituyentes. Sustituyentes adecuados se describen en detalle más adelante. En ciertas realizaciones, el grupo hidroxilo puede estar también sustituido.

25 Grupo "heterocicloalquilo que contiene nitrógeno" significa un grupo cíclico no aromático de 4 a 7 miembros que contiene al menos un átomo de nitrógeno, por ejemplo, pero sin limitación, morfolina, piperidina (por ejemplo 2-piperidinilo, 3-piperidinilo y 4-piperidinilo), pirrolidina (por ejemplo 2-pirrolidinilo y 3-pirrolidinilo), azetidina, pirrolidona, imidazolina, imidazolidinona, 2-pirazolina, pirazolidina, piperazina, y N-alquilo piperazinas tales como N-metil piperazina. Ejemplos particulares incluyen azetidina, piperidona y piperazona.

"Sulfanilo" se refiere a un radical HS-. "Sulfanilo sustituido" se refiere a un radical tal como RS- en donde R es cualquier sustituyente descrito aquí. En particular, R es un alquilo sustituido o no sustituido o arilo no sustituido o heteroarilo sustituido o no sustituido.

30 "Sulfinilo" se refiere a un radical divalente -S(O)-. "Sulfinilo sustituido" se refiere a un radical tal como -SOR^{61a}, en donde R^{61a} es cualquier sustituyente descrito aquí. En particular, R^{61a} es alquilo sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido o heteroarilo sustituido o no sustituido.

"Aminosulfonilo" o "sulfonamida" se refiere al radical H₂N(O₂)S-, y "aminosulfonilo sustituido" o "sulfonamida sustituida" se refiere a un radical tal como R⁶²₂N(O₂)S- en donde cada R⁶² es independientemente cualquier sustituyente descrito aquí.

35 "Sulfonilo" se refiere al radical divalente -S(O₂)-. "Sulfonilo sustituido" se refiere a un radical tal como -S(O₂)R⁶¹, en el cual R⁶¹ es cualquier sustituyente descrito en el presente documento. En particular, R⁶¹ es un alquilo sustituido o no sustituido o un arilo sustituido o no sustituido.

40 "Aminosulfonilo" o "Sulfonamida" se refiere al radical H₂N(PO₂)S-, y "amino aminosulfonilo sustituido" o "sulfonamida sustituida" se refiere a un radical tal como R⁶²₂N(O₂)S- en el cual cada R⁶² es independientemente cualquier sustituyente descrito en el presente documento.

"Sulfonamida" se refiere a un grupo de compuestos que contienen el grupo químico -SO₂NH₂.

"Sulfona" se refiere al grupo -SO₂R⁶³. En realizaciones particulares, R⁶³ se selecciona de alquilo inferior, alquilo, arilo y heteroarilo.

"Sulfo" o "ácido sulfónico" se refiere a un radical tal como -SO₃H.

45 " Sulfo sustituido" o "éster de ácido sulfónico " se refiere a un radical tal como -SO₃R^{61b} en el cual R^{61b} es un alquilo sustituido o no sustituido o un arilo sustituido o no sustituido.

"Tioalcoxi" se refiere al grupo -SR⁶⁰ en el cual R⁶⁰ es alquilo.

"Tioalcoxi sustituido" se refiere a aquellos grupos citados en la definición de "sustituido" aquí, y particularmente se

refiere a un grupo tioalcoxi que tiene 1 o más sustituyentes, por ejemplo de 1 a 5 sustituyentes, y particularmente de 1 a 3 sustituyentes, seleccionados del grupo consistente de acilo, acilamino, aciloxi, alcoxi, alcoxi sustituido, alcoxycarbonilo, alcoxycarbonilamino, amino, amino sustituido, aminocarbonilo, aminocarbonilamino, aminocarboniloxi, arilo, ariloxi, azido, carboxilo, ciano, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, halógeno, hidroxilo, ceto, nitro, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, tioariloxi, tioceto, tiol, alquil-S(O)-, aril-S(O)-, alquil-S(O)₂- y aril-S(O)₂-.

"Tioariloxi" se refiere al grupo -SR⁶⁴ en el cual R⁶⁴ es arilo.

"Tioceto" se refiere al grupo =S.

"Tiol" se refiere al grupo -SH.

Una persona con experiencia normal en el arte de la síntesis orgánica reconocerá que el número máximo de heteroátomos en un anillo heterocíclico químicamente factible, estable, bien sea aromático o no aromático, está determinado por el tamaño del anillo, el grado de insaturación y la valencia de los heteroátomos. En general, un anillo heterocíclico puede tener uno a cuatro heteroátomos siempre y cuando el anillo heteroaromático sea químicamente factible y estable.

"Farmacéuticamente aceptable" significa aprobado por una agencia reguladora del gobierno Federal o de un estado o listada en la U.S. Pharmacopoeia u otra farmacopea reconocida en general para su uso en animales, y más particularmente en humanos.

"Vehículo farmacéuticamente aceptable" se refiere a un diluyente, adyuvante, excipiente o portador con el cual se administra un compuesto de la invención.

"Sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a las sales de adición ácida y sales de adición básica inorgánicas y orgánicas no tóxicas, de compuestos de la presente invención en particular son farmacéuticamente aceptables y poseen la actividad farmacológica deseada del compuesto original. Estas sales pueden ser preparadas *in situ* durante el aislamiento y purificación finales de los compuestos útiles en la presente invención. Tales sales incluyen: (1) sales de adición ácida formadas con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y similares; o formadas con ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido propiónico, ácido hexanoico, ácido ciclopentanopropiónico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido láctico, ácido malónico, ácido succínico, ácido málico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido 3-(4-hidroxibenzoil) benzoico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido 1,2-etano-disulfónico, ácido 2-hidroxi-etanosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido 4-clorobencenosulfónico, ácido 2-naftalenosulfónico, ácido 4-toluenosulfónico, ácido canforsulfónico, ácido 4-dorobencenosulfónico, ácido 2-naftaleno sulfónico, ácido 4-toluenosulfónico, ácido canforsulfónico, ácido 4-metilbicyclo[2.2.2]-oct-2-eno-1-carboxílico, ácido glucóheptónico, ácido 3-fenilpropiónico, ácido trimetilacético, ácido butilacético terciario, ácido laurilsulfónico, ácido glucónico, ácido glutámico, ácido hidroxinaftoico, ácido salicílico, ácido esteárico, ácido muónico y similares; o (2) sales formadas cuando un protón ácido presente en el compuesto original es reemplazado por un ión metálico, por ejemplo un ión de un metal alcalino, un ión alcalinotérreo o un ión aluminio; o coordina con una base orgánica tal como etanolamina, dietanolamina, trietanolamina, N-metilglucamina y similares. Las sales incluyen adicionalmente, a manera de ejemplos solamente, sodio, potasio, calcio, magnesio, amonio, tetraalquilamonio y similares; y cuando el compuesto contiene una funcionalidad básica, sales de ácidos orgánicos o inorgánicos no tóxicos, tales como clorhidrato, bromhidrato, tartrato, mesilato, acetato, maleato, oxalato y similares. El término "catión farmacéuticamente aceptable" se refiere a un contraión catiónico aceptable, no tóxico de un grupo funcional ácido. Tales cationes son ejemplificados por los cationes sodio, potasio, calcio, magnesio, amonio, tetraalquilamonio y similares.

"Solvato" significa una asociación física de un compuesto útil en esta invención con una o más moléculas de solvente. La asociación física incluye puentes de hidrógeno. En ciertos casos el solvato será capaz de aislamiento, por ejemplo cuando una o más moléculas de solvente se incorporan en la red cristalina del sólido cristalino. "Solvato" abarca tanto solvatos en fase de solución como aislables. Los compuestos de la invención pueden ser preparados por ejemplo, en forma cristalina y pueden ser solvatados o hidratados. Solvatos adecuados inducen solvatos farmacéuticamente aceptables, tales como hidratos, e inducen adicionalmente tanto solvatos estequiométricos como solvatos no estequiométricos. Solventes convencionales inducen agua, etanol, ácido acético y similares, por lo tanto, solvatos representativos inducen hidratos, etanolatos y metanolatos.

"Sujeto" se refiere a mamíferos humanos y no humanos. Los términos "humanos", "pacientes" y "sujetos" se utilizan aquí de manera intercambiable.

"Cantidad terapéuticamente efectiva" significa la cantidad de un compuesto que, cuando se administra a un sujeto para tratar una enfermedad, es suficiente para efectuar tal tratamiento para la enfermedad. La "cantidad terapéuticamente efectiva" puede variar dependiendo del compuesto, la enfermedad y su severidad, y la edad, peso, etc., del sujeto que va a ser tratado.

Otros derivados de los compuestos de esta invención tienen actividad tanto en sus formas ácida y derivadas de ácido, pero en la forma sensible ácida frecuentemente ofrecen ventajas de solubilidad, compatibilidad con tejidos o

liberación retardada en el organismo mamífero (véase Bundgard, H., Design of Prodrugs, pp. 7-9, 21-24, Elsevier, Amsterdam 1985).

“Variante isotópica” se refiere a un compuesto que contiene proporciones no naturales de isótopos en uno o más de los átomos que constituyen tal compuesto. Por ejemplo, una “variante isotópica” de un compuesto puede contener uno o más isótopos no radioactivos, tales como por ejemplo, deuterio (^2H o D), carbono 13 (^{13}C), nitrógeno-15 (^{15}N), o similares. Se entenderá que, en un compuesto donde se hace tal sustitución isotópica, los siguientes átomos, cuando están presentes, pueden variar, de tal manera que por ejemplo, cualquier hidrógeno puede ser $^2\text{H}/\text{D}$, cualquier carbono puede ser ^{13}C , o cualquier nitrógeno puede ser ^{15}N , y que la presencia y ubicación de tales átomos puede determinarse dentro de la habilidad del arte. De la misma forma, la invención puede incluir la preparación de variantes isotópicas con radioisótopos, en el caso por ejemplo, donde los compuestos resultantes pueden ser utilizados para estudios de fármacos y/o de distribución en tejido sustrato. Los isótopos radioactivos tritio, esto es ^3H , y carbono-14, esto es ^{14}C , son particularmente útiles para este propósito a la luz de su facilidad de incorporación y fáciles medios de detección. Adicionalmente, pueden prepararse compuestos que están sustituidos con isótopos emisores de positrones, tales como ^{11}C , ^{18}F , ^{15}O y ^{13}N , y serían útiles en estudios por topografía por emisión de positrones (PET) para examinar la ocupación de receptores del sustrato. Todas las variantes isotópicas de los compuestos provistos aquí, radioactivos o no, están previstas para ser abarcadas dentro del ámbito de la invención.

También debe entenderse que los compuestos que tienen la misma fórmula molecular pero difieren en la naturaleza o secuencia del enlace de sus átomos o de la disposición de sus átomos en el espacio se denominan “isómeros”. Los isómeros que difieren en la disposición de sus átomos en el espacio se denominan “estereoisómeros”.

Estereoisómeros que no son imágenes especulares uno de otro se denominan “diastereómeros” y aquellos que son imágenes especulares no superimponibles uno de otro se denominan “enantiómeros”. Cuando un compuesto tiene un centro asimétrico, por ejemplo, está enlazado a cuatro grupos diferentes, es posible un par de enantiómeros. Un enantiómero puede estar caracterizado por la configuración absoluta de su centro asimétrico y es descrito por las reglas de secuenciación R-y S- de Cahn y Prelog, o por la forma en la cual la molécula hace rotar el plano de la luz polarizada y se designan como dextrorrotatorio o levorrotatorio (esto es como isómeros (+) o (-) respectivamente). Puede existir un compuesto quiral bien sea como un enantiómero individual o como una mezcla de los mismos. Una mezcla que contiene proporciones iguales de los enantiómeros se denomina como una “mezcla racémica”.

Tal como se utiliza aquí un compuesto enantiomérico puro está sustancialmente libre de otros enantiómeros o estereoisómeros del compuesto (esto es, en exceso enantiomérico). En otras palabras, una forma “S” del compuesto está sustancialmente libre de la forma “R” del compuesto y está, así, en exceso enantiomérico de la forma “R”. El término “enantioméricamente puro” o “enantiómero puro” denota que el compuesto comprende más de 75% en peso, más de 80% en peso, más de 85% en peso, más de 90% en peso, más de 91% en peso, más de 92% en peso, más de 93% en peso, más de 94% en peso, más de 95% en peso, más de 96% en peso, más de 97% en peso, más de 98% en peso, más de 98,5% en peso, más de 99% en peso, más de 99,2% en peso, más de 99,5% en peso, más de 99,6% en peso, más de 99,7% en peso, más de 99,8% en peso o más de 99,9% en peso, del enantiómero. En ciertas realizaciones, los pesos están basados en el peso total de todos los enantiómeros o estereoisómeros del compuesto.

Tal como se utiliza aquí y al menos que se indique otra cosa, el término “compuesto R enantioméricamente puro” se refiere a al menos 80% en peso del compuesto R y como máximo aproximadamente 20% en peso del compuesto S, al menos aproximadamente 90% en peso del compuesto R y como máximo aproximadamente 10% en peso del compuesto S, al menos aproximadamente 95% en peso del compuesto R y como máximo aproximadamente 5% en peso del compuesto S, al menos aproximadamente 99% en peso del compuesto R y como máximo aproximadamente 1% en peso del compuesto S, al menos aproximadamente 99,9% en peso del compuesto R o al menos aproximadamente 0,1% en peso del compuesto S. En ciertas realizaciones, los pesos se basan en el peso total del compuesto.

Tal como se utiliza aquí y al menos que se indique otra cosa, el término “compuesto S enantioméricamente puro” o “compuesto S” se refiere a al menos 80% en peso del compuesto S y como máximo aproximadamente 20% en peso del compuesto R, al menos aproximadamente 90% en peso del compuesto S y como máximo aproximadamente 10% en peso del compuesto R, al menos aproximadamente 95% en peso del compuesto S y como máximo aproximadamente 5% en peso del compuesto R, al menos aproximadamente 99% en peso del compuesto S y como máximo aproximadamente 1% en peso del compuesto R, o al menos aproximadamente 99,9% en peso del compuesto S y como máximo aproximadamente 0,1% en peso del compuesto R. En ciertas realizaciones, los pesos están basados en el peso total del compuesto.

En las composiciones provistas aquí, un compuesto enantioméricamente puro o una sal, solvato, hidrato o profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo puede estar presente con otros ingredientes activos o inactivos. Por ejemplo, una composición farmacéutica que comprende el compuesto R enantioméricamente puro puede comprender, por ejemplo, aproximadamente 90% de excipiente y aproximadamente 10% de compuesto R enantioméricamente puro. En ciertas realizaciones, el compuesto R enantioméricamente puro en tales composiciones puede comprender, por ejemplo, al menos aproximadamente 95% en peso de compuesto R y como

en las que

W es CR⁴; Z es CR⁴;

L¹ es C₁-C₂ alquileo, no sustituido o sustituido con alquilo, oxo, o hidroxialquilo;

R¹ es arilo sustituido o no sustituido;

5 R² es H o Me;

R³ es Hidroxi, amino o alquilamino;

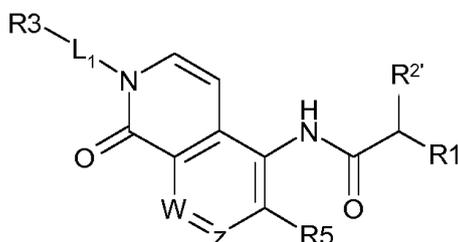
cada R⁴ es seleccionado independientemente de H, alquilo sustituido o no sustituido, alcoxi sustituido o no sustituido, ciano, cicloalquilo sustituido o no sustituido, cicloheteroalquilo sustituido o no sustituido, halo, y hidroxi;

R⁵ es metilo;

10 o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de los mismos;

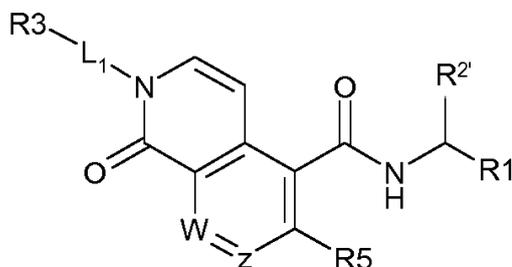
y estereoisómeros, variantes isotópicas y tautómeros de los mismos.

En una realización, el compuesto está de acuerdo con la fórmula la:



la

En otra realización, el compuesto está de acuerdo con la fórmula lb:



lb

15

En una realización adicional, con respecto a los compuestos de las fórmulas la o lb, L¹ es -CH₂CH₂-.

En una realización adicional, con respecto a los compuestos de las fórmulas la o lb, L¹ es C₂ alquileo sustituido con un grupo seleccionado de Me, i-Bu y hidroximetilo.

20

En una realización adicional, con respecto a los compuestos de las fórmulas la o lb, L¹ es -CH₂C(Me)H-, -CH₂CMe₂-, -CH₂C(i-Pr)H-, -CH₂C(i-Bu)H-, -CH₂C(CH₂OH)H-, o -C(Me)HCH₂-.

En una realización adicional, con respecto a los compuestos de las fórmulas la o lb, R¹ es fenilo sustituido.

En una realización, con respecto a los compuestos de las fórmulas la o lb, R² es H.

En una realización adicional, con respecto a los compuestos de las fórmulas la o lb, R³ es -OH. En otra realización, R³ es NH₂. En otra realización, R³ es amino sustituido.

25

En una realización, con respecto a las fórmulas la-lb, el compuesto está de acuerdo con las fórmulas IIa o IIb:

En una realización, con respecto a las fórmulas Ia-IIb, cada W y Z cada CH.

En una realización, con respecto a las fórmulas Ia-IIb, cada R⁴ es seleccionado independientemente de Me, Et, Ph, Cl, F, Br, CN, OH, OMe, OEt, OPh, COPh, CF₃, CHF₂, OCF₃, i-Pr, i-Bu, t-Bu, SMe, CH=CH-CO₂H, SOMe, SO₂Me, SO₃H, SO₃Me, y piridilo.

- 5 En una realización, con respecto a las fórmulas Ia-IIb, cada R⁴ es seleccionado independientemente de Me, Et, CF₃, CHF₂, i-Pr, i-Bu, y t-Bu.

En una realización, con respecto a las fórmulas Ia-IIb, cada R⁴ es seleccionado independientemente de Cl and F.

En una realización, con respecto a las fórmulas Ia-IIb, cada R⁴ es seleccionado independientemente de OH, OMe, OEt, OPh, y OCF₃.

- 10 En una realización, con respecto a las fórmulas Ia-IIb, cada R⁴ es seleccionado independientemente de SMe, SOMe, SO₂Me, SO₃H, y SO₃Me.

En una realización, con respecto a las fórmulas Ia-IIb, W es CR⁴ y R⁴ se selecciona de Me, Et, Ph, Cl, F, Br, CN, OH, OMe, OEt, OPh, COPh, CF₃, CHF₂, OCF₃, i-Pr, i-Bu, t-Bu, SMe, CH=CH-CO₂H, SOMe, SO₂Me, SO₃H, SO₃Me, y piridilo.

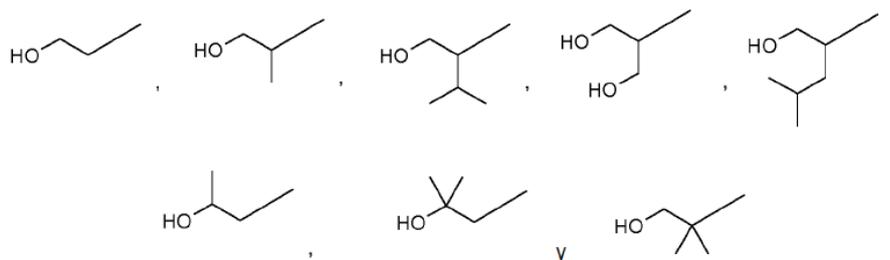
- 15 En una realización, con respecto a las fórmulas Ia-IIb, Z es CR⁴ y R⁴ se selecciona de Me, Et, Ph, Cl, F, Br, CN, OH, OMe, OEt, OPh, COPh, CF₃, CHF₂, OCF₃, i-Pr, i-Bu, t-Bu, SMe, CH=CH-CO₂H, SOMe, SO₂Me, SO₃H, SO₃Me, y piridilo.

- 20 En una realización, con respecto a las fórmulas Ia-IIb, W es CR⁴ y R⁴ se selecciona de Me, Et, Ph, Cl, F, Br, CN, OH, OMe, OEt, OPh, COPh, CF₃, CHF₂, OCF₃, i-Pr, i-Bu, t-Bu, SMe, CH=CH-CO₂H, SOMe, SO₂Me, SO₃H, SO₃Me, y piridilo; y Z es CH.

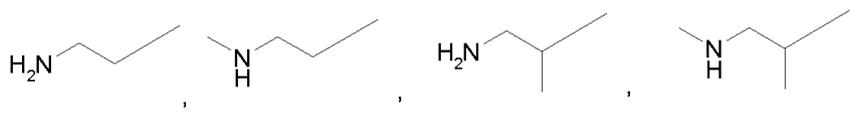
En una realización, con respecto a las fórmulas Ia-IIb, Z es CR⁴ y R⁴ se selecciona de Me, Et, Ph, Cl, F, Br, CN, OH, OMe, OEt, OPh, COPh, CF₃, CHF₂, OCF₃, i-Pr, i-Bu, t-Bu, SMe, CH=CH-CO₂H, SOMe, SO₂Me, SO₃H, SO₃Me, y piridilo; y W es CH.

En una realización, con respecto a los compuestos de las fórmulas Ia-IIb, R² es H. En otra realización, R² es Me.

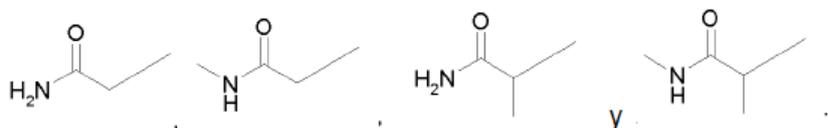
- 25 En una realización, con respecto a las fórmulas Ia-IIb, el grupo -L₁-R³ se selecciona de

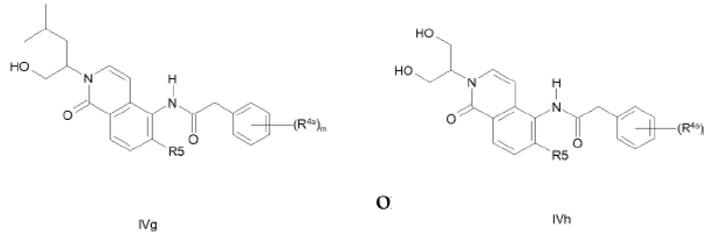


En una realización, con respecto a las fórmulas Ia-IIb, el grupo -L₁-R³ se selecciona de



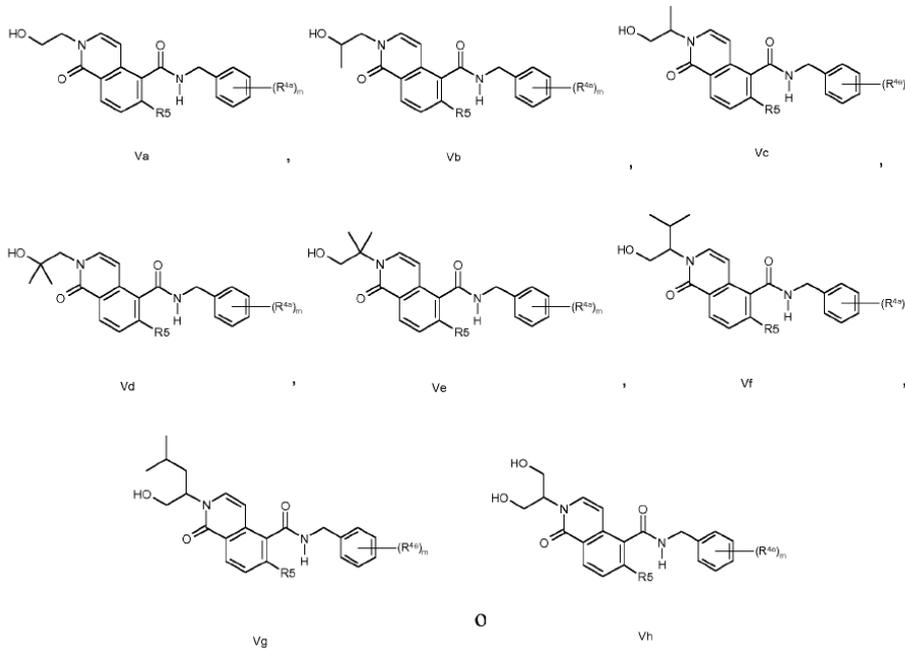
- 30 En una realización, con respecto a las fórmulas Ia-IIb, el grupo -L₁-R³ se selecciona de





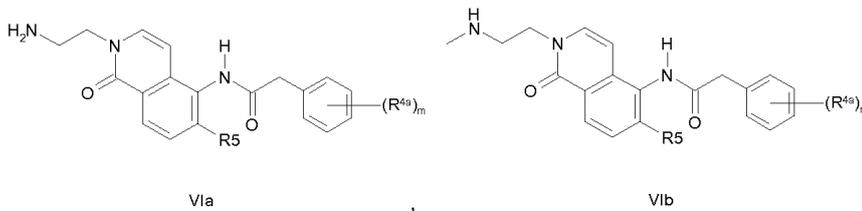
en las que cada R^{4a} es seleccionado independientemente de hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alcoxi sustituido o no sustituido, ciano, halo, y hidroxil; y m se selecciona de 0-5; y R⁵ es metilo.

5 En una realización, con respecto a la fórmula Ib, el compuesto está de acuerdo con las fórmulas Va, Vb, Vc, Vd, Ve, Vf, Vg, Vh, Vi o Vj:



en las que cada R^{4a} es seleccionado independientemente de hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alcoxi sustituido o no sustituido, ciano, halo y hidroxil; y m se selecciona de 0-5; y R⁵ es metilo.

En una realización, con respecto a la fórmula Ia, el compuesto está de acuerdo con las fórmulas Vla, Vlb, Vlf o Vlg:



Me, Et, Cl, F, CF₃, y CHF₂.

En una realización, con respecto a las fórmulas IVa-VIlg, m es 2; y cada R^{4a} es seleccionado independientemente de Me, Cl, F, y CF₃.

5 En una realización, con respecto a las fórmulas IVa-VIlg, m es 2; y cada R^{4a} es seleccionado independientemente de Cl, F, y CF₃.

En una realización, con respecto a las fórmulas IVa-VIlg, m es 1 y R^{4a} es CF₃.

En una realización, con respecto a las fórmulas IVa-VIlg, m es 2 y un R^{4a} es F o Cl; y el otro R^{4a} es CF₃.

En una realización, con respecto a las fórmulas IVa-VIlg, m es 2 y un R^{4a} es F; y el otro R^{4a} es CF₃.

En una realización, con respecto a las fórmulas IVa-VIlg, m es 2 y un R^{4a} es Cl; y el otro R^{4a} es CF₃.

10 En una realización, con respecto a las fórmulas IVa-VIlg, m es 2 y cada R^{4a} es seleccionado independientemente de F and Cl.

En una realización, con respecto a las fórmulas IVa-VIlg, m es 2 y un R^{4a} es F; y el otro R^{4a} es F.

En una realización, con respecto a las fórmulas IVa-VIlg, m es 2 y un R^{4a} es Cl; y el otro R^{4a} es Cl.

En una realización, con respecto a las fórmulas IVa-VIlg, m es 2 y un R^{4a} es F; y el otro R^{4a} es Cl.

15 En una realización, con respecto a las fórmulas Ia-Ib, el compuesto se selecciona de compuestos ejemplificados en la Tabla 1.

En una realización, con respecto a las fórmulas Ia-Ib, el compuesto se selecciona de:

2-(3-Fluoro-4-trifluorometil-fenil)-N-[2-((R)-2-hidroxi-1-metil-etil)-6-metil-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-acetamida;

2-(4-Fluoro-3-trifluorometil-fenil)-N-[2-((R)-2-hidroxi-1-metil-etil)-6-metil-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-acetamida;

20 2-(2-Fluoro-3-trifluorometil-fenil)-N-[2-((R)-2-hidroxi-1-metil-etil)-6-metil-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-acetamida;

2-(2-Fluoro-3-trifluorometil-fenil)-N-[2-(2-hidroxi-etil)-6-metil-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-acetamida;

N-[2-((R)-2-Hidroxi-1-metil-etil)-6-metil-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-2-(4-trifluorometil-fenil)-acetamida;

2-(4-Cloro-3-fluoro-fenil)-N-[2-((R)-2-hidroxi-1-metil-etil)-6-metil-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-acetamida;

2-(4-Fluoro-3-trifluorometil-fenil)-N-[2-(2-hidroxi-etil)-6-metil-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-acetamida; y

25 2-(3-Fluoro-4-trifluorometil-fenil)-N-[2-(2-hidroxi-etil)-6-metil-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-acetamida.

En una realización, con respecto a las fórmulas Ia-Ib, el compuesto se selecciona de:

2-(3-Fluoro-4-trifluorometil-fenil)-N-[2-((S)-2-hidroxi-1-metil-etil)-6-metil-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-acetamida;

N-[2-((R)-2-Hidroxi-1-metil-etil)-6-metil-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-2-(3-trifluorometil-fenil)-acetamida;

2-(3-Fluoro-4-trifluorometil-fenil)-N-[6-metil-2-(2-metilamino-etil)-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-acetamida;

30 ácido 2-((R)-2-Hidroxi-1-metil-etil)-6-metil-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolina-5-carboxílico de 3-fluoro-4-trifluorometil-bencilamida;

ácido 2-((R)-2-Hidroxi-1-metil-etil)-6-metil-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolina-5-carboxílico de 3-trifluorometil-bencilamida;

ácido 2-((R)-2-Hidroxi-1-metil-etil)-6-metil-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolina-5-carboxílico de 4-cloro-3-fluoro-bencilamida;

35 (R)-2-{5-[2-(3-Fluoro-4-trifluorometil-fenil)-acetilamino]-6-metil-1-oxo-1H-isoquinolin-2-il}-propionamida;

N-[2-((R)-2-Amino-1-metil-etil)-6-metil-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-2-(3-fluoro-4-trifluorometil-fenil)-acetamida;

2-(3-Fluoro-4-trifluorometil-fenil)-N-[6-metil-2-((R)-1-metil-2-metilamino-etil)-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-acetamida; y

40 2-(3-Fluoro-4-trifluorometil-fenil)-N-[2-(2-hidroxi-1-hidroximetil-etil)-6-metil-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-acetamida

Composiciones farmacéuticas

Cuando se emplean como productos farmacéuticos, los compuestos de esta invención se administran típicamente en la forma de una composición farmacéutica. Tales composiciones pueden ser preparadas de una manera bien conocida en el arte farmacéutico que comprende al menos un compuesto activo.

5 En general, los compuestos de esta invención se administran en una cantidad terapéuticamente efectiva. La cantidad del compuesto administrada realmente se determinará típicamente por parte de un médico, a la luz de las circunstancias relevantes, incluyendo la afección que se va a tratar, la ruta de administración escogida, el compuesto real administrado, la edad, peso y respuesta del paciente individual, la severidad de los síntomas del paciente, y similares.

10 Las composiciones farmacéuticas de esta invención pueden ser administradas mediante una variedad de rutas incluyendo oral, rectal, transdérmica, subcutánea, intravenosa, intramuscular e intranasal. Dependiendo de la ruta prevista de administración, los compuestos de esta invención se formulan preferiblemente bien sea como composiciones inyectables u orales o como bálsamos, como lociones o como parches todos para administración transdérmica.

15 Las composiciones para administración oral pueden tomar la forma de soluciones o suspensiones líquidas a granel, o polvos a granel. De manera más común, sin embargo, las composiciones se presentan en forma de dosificación unitarias para facilitar una dosificación exacta. El término "formas de dosificación unitarias" se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias para sujetos humanos y otros mamíferos, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de material activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con un excipiente farmacéutico aceptable. Formas de dosificación unitaria
20 típicas incluyen ampollas o jeringas prellenadas, premedidas de las composiciones líquidas o píldoras, comprimidos, cápsulas o similares en el caso de composiciones sólidas. En tales composiciones, el compuesto de ácido furansulfónico es usualmente un componente menor (desde aproximadamente 0,1 hasta aproximadamente 50% en peso o preferiblemente desde aproximadamente 1 hasta aproximadamente 40% en peso) siendo el resto diversos
25 vehículos o portadores y auxiliares de procesamiento útiles para formar la forma de dosificación deseada.

Las formas líquidas adecuadas para administración oral pueden incluir un vehículo acuoso o no acuoso adecuado con reguladores, agentes de suspensión y dispensación, colorantes, sabores y similares. Las formas sólidas pueden incluir, por ejemplo, cualquiera de los siguientes ingredientes, o compuestos de una naturaleza similar: un aglomerante tal como celulosa microcristalina, goma de tragacanto o gelatina; un excipiente tal como almidón o
30 lactosa, un agente de desintegración tal como ácido algínico, Primogel, o almidón de maíz; un lubricante tal como estearato de magnesio; un agente de deslizamiento tal como dióxido de silicio coloidal; un agente endulzante tal como sacarosa o sacarina; o un agente saborizante tal como un sabor de menta, salicilato de metilo o naranja.

Las composiciones inyectables se basan típicamente en solución salina estéril o solución regulada con fosfato inyectables u otros portadores inyectables conocidos en el arte. Como antes, el compuesto activo en tales
35 composiciones es típicamente un componente menor, siendo frecuentemente desde aproximadamente 0,05 hasta 10% en peso siendo el resto el portador inyectable y similares.

Las composiciones transdérmicas se formulan típicamente como un ungüento o crema tópicos que contienen los ingredientes activos, generalmente en una cantidad que varía desde aproximadamente 0,01 hasta aproximadamente
40 20% en peso, preferiblemente desde aproximadamente 0,1 hasta aproximadamente 20% en peso, preferiblemente desde aproximadamente 0,1 hasta aproximadamente 10% en peso, y más preferiblemente desde aproximadamente 0,5 hasta aproximadamente 15% en peso. Cuando se formulan como un ungüento, los ingredientes activos serán combinados típicamente con una base de ungüento parafínica o una miscible en agua. Alternativamente, los ingredientes activos pueden ser formulados en una crema, por ejemplo, con una base para crema de aceite en agua. Tales formulaciones transdérmicas son bien conocidas en el arte y en general incluyen ingredientes adicionales para
45 potenciar la penetración dérmica de estabilidad de los ingredientes activos o la formulación. Todos los tales formulaciones e ingredientes transdérmicos conocidos están incluidos dentro del ámbito de esta invención.

Los compuestos de esta invención también pueden ser administrados mediante un dispositivo transdérmico. De acuerdo con lo anterior, la administración transdérmica puede ser lograda utilizando un parche bien sea del tipo de depósito o membrana porosa, o de una variedad de matriz sólida.

50 Los componentes antes descritos para composiciones administrables oralmente, inyectables o administrables por vía tópica son meramente representativos. Otros materiales así como técnicas de procesamiento y similares se definen en la parte 8 de Remington's The Science and Practice of Pharmacy, 21st edition, 2005, Publisher: Lippincott Williams & Wilkins, la cual se incorpora aquí como referencia.

Los compuestos de esta invención también pueden ser administrados en formas de liberación sostenida o a partir de sistemas de administración de fármacos de liberación sostenida. Una descripción de materiales de liberación sostenida representativos pueden encontrarse en Remin's Pharmaceutical Sciences.

Los siguientes ejemplos de formulación ilustran composiciones farmacéuticas representativas que pueden ser

preparadas de acuerdo con esta invención. La presente invención, sin embargo, no está limitada a las siguientes composiciones farmacéuticas.

Formulación 1 – Comprimidos

5 Un compuesto de la invención es mezclado como un polvo seco como un aglomerante de gelatina en una relación en peso de aproximadamente 1:2, Se agrega una cantidad menor de estearato de magnesio como lubricante. La mezcla es conformada en comprimidos de 240-270 mg (80-90 mg de compuesto activo por comprimido) en una prensa para comprimido.

Formulación 2 – Cápsulas

10 Un compuesto de la invención es mezclado como un polvo seco con un diluyente de almidón en una relación en peso aproximada de 1:1, La mezcla es rellena en cápsulas de 250 mg (125 mg de compuesto activo por cápsula).

Formulación 3 – Líquida

15 A partir de un compuesto de la invención (125 mg) puede ser mezclado con sacarosa (1,75 g) y goma de xantano (4 mg) y la mezcla resultante puede ser mezclada, pasada a través de un tamiz U.S. malla No. 10 y luego mezclado con una solución previamente preparada de celulosa microcristalina y carboximetilcelulosa de sodio (11:89, 50 mg) en agua. Se diluyen con agua benzoato de sodio (10 mg), sabor y color y se agregan con agitación. Puede agregarse entonces agua suficiente para producir un volumen total de 5 ml.

Formulación 4 – Comprimidos

20 Un compuesto de la invención puede ser mezclado como un polvo seco con un aglomerante de gelatina seco en una relación en peso aproximada de 1:2, Se agrega una cantidad menor de estearato de magnesio como lubricante. La mezcla es conformada en comprimidos de 450-900 mg (150-300 mg de compuesto activo) en una prensa para comprimidos.

Formulación 5 – Inyección

Un compuesto de la invención es disuelto o suspendido en un medio acuoso inyectable de solución salina estéril regulada a una concentración de aproximadamente 5 mg/ml.

25 Formulación 6 – Tópica

Se funden alcohol estearílico (250 g) y petrolato blanco (250 g) a aproximadamente 75°C y luego se agrega una mezcla de un compuesto de la invención (50 g), metilparabeno (0,25 g), propilparabeno (0,15 g), lauril sulfato de sodio (10 g), y propilen glicol (120 g) disueltos en agua (aproximadamente 370 g) y la mezcla resultante se agita hasta que se congela.

30 Compuestos para su uso en procedimientos de tratamiento

Los presentes compuestos son utilizados como agentes terapéuticos para el tratamiento de afecciones en mamíferos que están relacionadas causalmente o son atribuibles a una actividad aberrante del receptor P2X₇. De acuerdo con lo anterior, los compuestos y las composiciones farmacéuticas de esta invención encuentran uso como agentes terapéuticos para prevenir y/o tratar afecciones autoinmunes, inflamatorias y cardiovasculares en mamíferos incluyendo humanos. Así, como se estableció anteriormente, la presente invención incluye dentro de su ámbito, y se extiende a los compuestos para su uso en tales procedimientos, y para el uso de tales compuestos para la preparación de medicamentos útiles para tales procedimientos.

40 En un aspecto, esta invención provee compuestos para su uso en un procedimiento de tratamiento de un mamífero susceptible a o afligido con una afección asociada con artritis, uveítis, asma, infarto del miocardio, lesión cerebral traumática, lesión aguda de la médula ósea, enfermedad inflamatoria del intestino y trastornos autoinmunes, procedimiento que comprende administrar una cantidad efectiva de una o más de las composiciones farmacéuticas que se acaban de describir.

45 En aún otro aspecto, esta invención provee compuestos para su uso en un procedimiento de tratamiento de un mamífero susceptible de o afligido con una afección que da lugar a respuestas de dolor o que se relaciona con desbalances en el mantenimiento de la actividad basal de los nervios sensoriales. Las presentes aminos tienen uso como analgésicos para el tratamiento del dolor de diversas génesis o etiología, por ejemplo dolor agudo, inflamatorio (tal como el dolor asociado con osteoartritis y artritis reumatoide); diversos síndromes de dolor neuropáticos (tales como neuralgia postherpética, neuralgia trigeminal, distrofia simpática refleja, neuropatía diabética, síndrome de Guillain Barré, fibromialgia, dolor de extremidad fantasma, dolor postmastectomía, neuropatía periférica, neuropatía por VIH y neuropatías inducidas por quimioterapias y otras iatrogénicas); dolor visceral (tal como el asociado con la enfermedad de reflejo gastroesofágico, síndrome de intestino irritable, enfermedad inflamatoria del intestino, pancreatitis y diversos trastornos ginecológicos y urológicos), dolor dental y dolor de cabeza (tal como migraña, dolor de cabeza en racimo y dolor de cabeza por tensión).

En aspectos adicionales, la invención provee compuestos para su uso en procedimientos de tratamiento de un mamífero susceptible a o afligido con enfermedades y trastornos neurodegenerativos tales como, por ejemplo, enfermedad de Parkinson, esclerosis múltiple; enfermedades y trastornos que son mediados por o dan como resultado una neuroinflamación tales como, por ejemplo, lesión cerebral traumática, y encefalitis; enfermedades y trastornos neuropsiquiátricos mediados centralmente tales como, por ejemplo, manía por depresión, enfermedad bipolar, ansiedad, esquizofrenia, trastornos de la alimentación, trastornos del sueño y trastornos cognitivos; epilepsia y trastornos por ataques; disfunción de la próstata, vejiga e intestino tales como, por ejemplo, incontinencia urinaria, dificultad urinaria, hipersensibilidad rectal, incontinencia fecal, hipertrofia prostática benigna y enfermedad inflamatoria del intestino; enfermedad y trastornos respiratorios y de las vías respiratorias tales como, por ejemplo, rinitis alérgica, asma y enfermedades reactivas de las vías respiratorias y enfermedad pulmonar obstructiva crónica; enfermedades y trastornos que son mediados por o dan como resultado una inflamación tales como, por ejemplo, artritis reumatoide y osteoartritis, infarto del miocardio, diversas enfermedades y trastornos autoinmunes, uveítis y aterosclerosis; picazón/pruritos tales como, por ejemplo, psoriasis, obesidad; trastornos lipídicos; cáncer; presión sanguínea; lesión de la médula espinal; y trastornos renales, comprendiendo el procedimiento administrar una cantidad efectiva en el tratamiento de la afección o en la prevención de la afección de una o más de las composiciones farmacéuticas que se acaban de describir.

Como un aspecto adicional de la invención se proveen los presentes compuestos para su uso como un producto farmacéutico especialmente en el tratamiento o prevención de las afecciones y enfermedades antes mencionadas. También se provee aquí el uso de los presentes compuestos en la manufactura de un medicamento para el tratamiento o prevención de una de las afecciones y enfermedades antes mencionadas.

Los niveles de dosis para inyección varían desde aproximadamente 0,1 mg/kg/hora a al menos 10 mg/kg/hora, todos desde aproximadamente 1 hasta aproximadamente 120 horas y especialmente 24 a 96 horas. También puede administrarse un bolo de precarga desde aproximadamente 0,1 mg/kg hasta aproximadamente 10 mg/kg o más para alcanzar niveles de estado de balance adecuados. Se espera que la dosis máxima total no exceda aproximadamente 2 g/día para un paciente humano de 40 a 80 kg.

Para la prevención y/o tratamiento de afecciones a largo plazo, tales como afecciones neurodegenerativas y autoinmunes, el régimen de tratamiento se prolonga usualmente a lo largo de muchos meses o años de tal manera que se prefiere una dosificación oral para conveniencia y tolerancia por parte del paciente. Con la dosificación oral, una a cinco y especialmente dos a cuatro y típicamente tres dosis orales por día son regímenes representativos. Utilizando estos patrones de dosificación, cada dosis provee desde aproximadamente 0,01 hasta aproximadamente 20 mg/kg del compuesto de la invención con dosis preferidas proveyendo cada una desde aproximadamente 0,1 hasta aproximadamente 10 mg/kg y especialmente aproximadamente 1 hasta aproximadamente 5 mg/kg.

Las dosis transdérmicas se seleccionan en general para proveer niveles similares o inferiores en sangre que los alcanzados utilizando dosis por inyección.

Cuando se utilizan para prevenir la aparición de una afección neurodegenerativa, autoinmune o inflamatoria, los compuestos de esta invención serán administrados a un paciente en riesgo de desarrollar la afección, típicamente por consejo y bajo supervisión de un médico, a los niveles de dosificación descritos más arriba. Los pacientes en riesgo de desarrollar una afección particular incluyen generalmente aquellos que tienen una historia familiar de la afección, o aquellos que han sido identificados por pruebas o selección genética como particularmente susceptibles a desarrollar la afección.

Los compuestos de esta invención pueden ser administrados como el único agente activo o pueden ser administrados en combinación con otros agentes, incluyendo otros compuestos que demuestran la misma o similar actividad terapéutica, y que se determinan como seguros y eficaces para tal administración combinada.

Procedimientos de síntesis generales

Los compuestos de bicloheteroarilo de esta invención pueden ser preparados a partir de materiales de partida fácilmente disponibles utilizando los siguientes procedimientos y procedimientos generales. Será evidente que cuando se dan condiciones de procesos típicos o preferidas (esto es, temperaturas de reacción, tiempos, relaciones molares de reactivos, solventes, presiones, etc.), pueden utilizarse también otras condiciones de proceso a menos que se establezca otra cosa. Las condiciones de reacción óptimas pueden variar con los reactivos o solventes particulares usados, pero tales condiciones pueden ser determinadas por una persona experimentada en el arte por procedimientos de optimización rutinarios.

Adicionalmente, tal como será evidente para los experimentados en el arte, pueden ser necesarios grupos protectores convencionales para evitar que ciertos grupos funcionales experimenten reacciones indeseadas. La selección de un grupo protector adecuado para un grupo funcional en particular así como de condiciones adecuadas para la protección y desprotección son bien conocidas en el arte. Por ejemplo, se describen numerosos grupos protectores, y su introducción y eliminación en T.W. Greene and P.G.M. Wuts, Protecting Groups in Organic Synthesis, Second Edition, Wiley, New York, 1991, y referencias citadas allí.

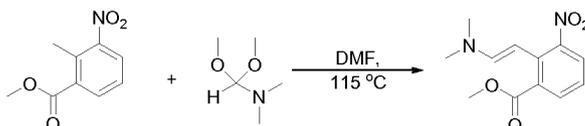
Los siguientes procedimientos representativos se presentan con detalles en cuanto a preparación de

bicicloheteroarilos representativos que han sido listados aquí más arriba. Los compuestos de la invención pueden ser preparados a partir de materiales de partida y reactivos conocidos o disponibles comercialmente por una persona experimentada en el arte de la síntesis orgánica.

Síntesis de productos intermedios

5 Producto intermedio 1

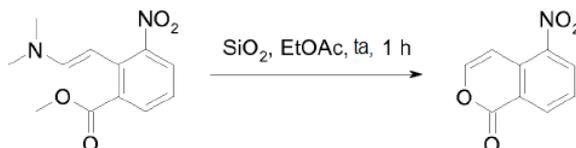
2-(2-(dimetilamino)-vinil)-3-nitrobenzoato de (E)-metilo



Una mezcla de 2-metil-3-nitrobenzoato de metilo (5,0 g, 25,6 mmol) y *N,N*-dimetilformamida dimetil acetal (9,18 g, 77 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (30 ml) se sometió a agitación a 115°C durante 17 h. Los volátiles fueron eliminados bajo presión reducida para dar 2-(2-(dimetilamino)-vinil)-3-nitrobenzoato de (*E*)-metilo en forma de un aceite marrón. ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 7,68 (m, 2H), 7,07 (t, *J*= 7,5 Hz 1H), 6,32 (d, *J*= 13,5 Hz, 1H), 5,65 (d, *J*= 13,5 Hz, 1H), 3,85 (s, 3H), 2,82 (s, 6H).

Producto intermedio 2

5,Nitro-1-1H-isocromen-1-ona



15

Se disolvió 2-(2-(dimetilamino)vinil)-3-nitrobenzoato de (*E*)-Metilo en acetato de etilo (200 ml), y se agregó sílica gel (200 g). La suspensión resultante se sometió a agitación a temperatura ambiente durante 1 h. La solución en acetato de etilo fue retirada por filtración. La sílica gel fue lavada con acetato de etilo (2x150 ml) y las fases orgánicas combinadas fueron evaporadas y secadas bajo presión reducida para generar 5-nitro-1H-isocromen-1-ona (4,0 g, 21,0 mmol, 82% después de dos pasos) en forma de un sólido marrón.

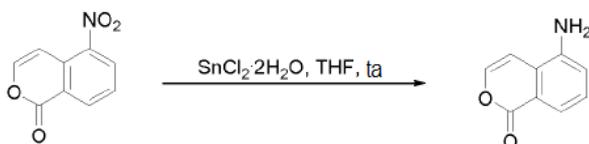
MS *m/z* = 192,1 (*M*+H)⁺.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 8,62 (d, *J*= 7,8 Hz, 1H), 8,47 (d, *J*= 8,1 Hz, 1H), 7,65 (m, 1H), 7,42 (d, *J*= 6,3 Hz, 1H), 7,36 (d, *J*= 6,3 Hz, 1H).

25 Puede encontrarse información adicional en McDonald, M.C. et al., British J. Pharmacol. 2000, 130,843, incorporado aquí como referencia.

Producto intermedio 3

5-Amino-1H-isocromen-1-ona



30

Se agregó cloruro de estaño (II) dihidrato (41,9 g, 185,7 mmol) a una solución en agitación de 5-nitro-1H-isocromen-1-ona (7,1 g, 37,1 mmol) en tetrahidrofurano anhidro (120 ml). La mezcla de reacción fue agitada a temperatura ambiente durante 18 horas. La mezcla resultante fue diluida con acetato de etilo (400 ml) y tratada con bicarbonato de sodio acuoso saturado a pH=10. Se agregó agua (100 ml) y las capas fueron separadas. La fase acuosa fue extraída con acetato de etilo (2 x 150 ml) y las fracciones orgánicas combinadas fueron secadas sobre sulfato de sodio, filtradas y evaporadas para generar el 5-amino-1H-isocromen-1-ona (5,8 g, 36,0 mmol, 97%) en forma de un sólido amarillo.

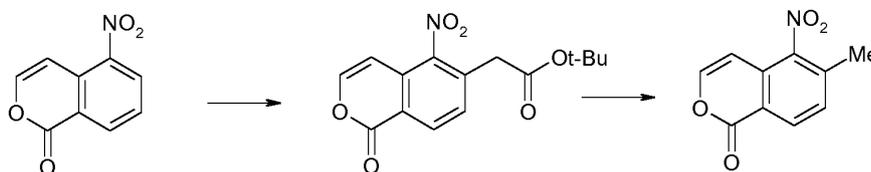
MS m/z = 162,3 (M+H)⁺.

¹H-RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 7,52 (d, J= 7,8 Hz, 1H), 7,32 (d, J= 5,7 Hz, 1H), 7,27 (t, J= 7,8 Hz, 1H), 7,07 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 6,80 (d, J= 5,7 Hz, 1H).

Puede encontrarse información adicional en Lee, B.S.; et al. J. Org. Chem. 2004, 69, 3319 incorporado aquí como referencia.

Producto intermedio 4

6-Metil-5-nitro-1H-isocromen-1-ona



15

a. 2-(5-nitro-1-oxo-1H-isocromen-6-il)acetato de (E)-tert butilo

Se cargó un matraz de fondo redondo con ter-butóxido de potasio (4,4 g, 0,039 mol) y N,N-dimetilformamida (30 ml, 0,4 mol) y una solución de ácido acético, cloro-, 1,1-dimetiletil éster (2,5 ml, 0,017 mol) y 5-nitro-isocromen-1-ona (3,0 g, 0,0157 mol) en N,N-dimetilformamida (5 ml, 0,06 mol) se agregó a -20°C lentamente durante un período de 40 minutos y la reacción fue agitada durante otros 45 minutos a la misma temperatura. La mezcla de reacción fue vertida en 4 ml de ácido clorhídrico y 80 ml de agua y se extrajo con diclorometano y se lavó con salmuera y se secó sobre sulfato de sodio. El solvente fue eliminado bajo presión reducida y el residuo fue purificado por cromatografía instantánea para generar el producto en forma de un aceite espeso claro.

20

MS m/z=306,4 (M+H).

25 b. 6-Metil-5-nitro-1H-isocromen-1-ona

Se cargó un vial para microondas con 2-(5-nitro-1-oxo-1H-isocromen-6-il)acetato de tert-butilo (800,0 mg, 0,002620 mol), ácido trifluoroacético (2 ml, 0,02 mol). La mezcla fue sometida a microondas a 100°C durante 20 minutos. El ácido trifluoroacético fue retirado bajo presión reducida y el residuo fue puesto en un tubo de microondas y se agregó quinolina (2 ml, 0,02 mol) y se calentó a 120°C durante 20 minutos. Se agregó acetato de etilo (50 ml) y se lavó con 10 ml de ácido clorhídrico 6N. La capa de ácido clorhídrico fue extraída con acetato de etilo (50 ml) y las capas orgánicas combinadas fueron lavadas con agua, salmuera y secadas. El solvente fue eliminado bajo presión reducida y el residuo sólido marrón fue purificado por cromatografía instantánea para generar el producto puro en forma de un sólido blanco.

30

MA m/z=206,4 (M+H)

35 ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8,29 (d, J=8,19 Hz, 1H), 7,71-7,69 (m, 2H), 6,57 (d, J=6,02 Hz, 1H), 2,45 (s, 3H).

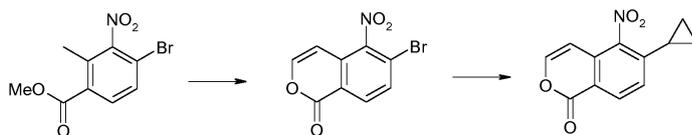
Alternativamente, a una solución de tert-butóxido de potasio (8,72 g, 0,0777 mol) en N,N-dimetilformamida (250 ml, 3,2 mol) se agregó la mezcla de ácido acético, cloro-, 1,1-dimetiletil éster (4,335 g, 0,0278 mol) y 5-nitro-1H-isocromen-1-ona (5,0 g, 0,026 mol) en N,N-dimetilformamida (50 ml, 0,6 mol) a -20°C. Después de 1 hora, la reacción fue vertida sobre ácido clorhídrico (16 ml) y agua (35 ml). La solución acuosa fue extraída con diclorometano, lavada con salmuera, secada sobre sulfato de sodio y concentrada bajo presión reducida. El residuo fue tratado con ácido trifluoroacético (35 ml, 0,45 mol) durante 0,5 horas y luego fue eliminado bajo presión reducida. El residuo fue agitado con carbonato de potasio (6,98 g, 0,0505 mol) en N,N-dimetilformamida (200 ml, 2 mol) a 50°C durante 1 hora. La reacción fue enfriada y se agregó ácido clorhídrico 1 N (262 ml), se extrajo con diclorometano (80 ml x 3), se lavó con salmuera y se secó con sulfato de magnesio. Los solventes fueron eliminados bajo presión reducida y la mezcla fue purificada por cromatografía instantánea para generar el compuesto del título en forma de un sólido amarillo.

40

45

Producto intermedio 5

6-Ciclopropil-5-nitro-1H-isocromen-1-ona



a. 6-bromo-5-nitro-1H-isocromen-1-ona

5 Un tubo de presión (150 ml) fue cargado con 4-bromo-2-metil-3-nitrobenzoato de metilo (2,1 g, 0,0077 mol), 1,1-dimetoxi-N,N-dimetilmetanamina (3,6 ml, 0,027 mol) y N,N-dimetilformamida (5 ml, 0,06 mol). La mezcla fue calentada a 120°C durante 20 horas. El solvente fue eliminado bajo presión reducida y el residuo fue disuelto en acetato de etilo (100 ml, 1 mol). Se agregó entonces sílica gel (20 g, 0,3 mol) y la reacción fue agitada a temperatura ambiente durante 12 horas. La reacción fue filtrada y el solvente fue eliminado y el residuo fue purificado por cromatografía instantánea para generar el producto deseado. MS m/z=271,2 (M+H).

b. 6-Ciclopropil-5-nitro-1H-isocromen-1-ona

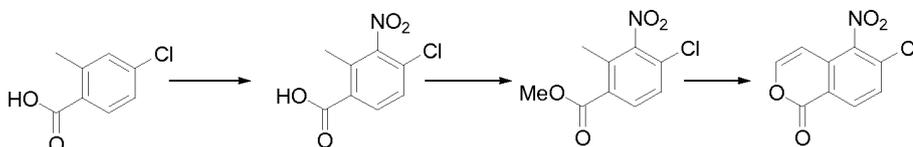
10 Un vial para microondas fue cargado con 6-bromo-5-nitro-1H-isocromen-1-ona (500,00 mg, 0,0018516 mol), ácido ciclopropilborónico (206,8 mg, 0,002407 mol), acetato de paladio (21 mg, 0,000092 mol), triciclohexilfosfina (52 mg, 0,00018 mol), fosfato de potasio (1376 mg, 0,006481 mol), tolueno (10 ml, 0,09 mol) y agua. La mezcla fue calentada usando irradiación con microondas a 100°C durante 30 minutos. La mezcla de reacción fue diluida entonces con agua y extraída con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas fueron lavadas con salmuera, secadas y evaporadas. El residuo resultante fue purificado por cromatografía instantánea para generar el producto. El producto fue usado como tal para la síntesis de los compuestos 6-ciclopropilo de esta invención sin purificación adicional.

MS m/z=232,3 (M+H).

20 ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 8,22 (d, J=8,63 Hz, 1H), 7,69 (d, J=5,85 Hz, 1H), 7,33 (d, J=8,47 Hz, 1H), 6,51 (d, J=6,05 Hz, 1H), 1,96-1,89 (m, 1H), 1,19-1,14 (m, 2H) 0,97-0,93 (m, 2H).

Producto intermedio 6

6-Cloro-5-nitro-1H-isocromen-1-ona



a. Ácido 4-cloro-2-metil-3-nitrobenzoico

25 Un matraz de fondo redondo fue cargado con ácido 4-cloro-2-metilbenzoico (200 mg, 0,001 mol) y ácido sulfúrico (1 ml, 0,02 mol). Se agregó ácido nítrico fumante (0,05 ml, 0,001 mol) a -20°C y la reacción fue agitada durante 1 hora a 70°C y vertida sobre agua enfriada con hielo, con lo cual precipitó una mezcla de los compuestos 2- y 4- nitro. El precipitado fue filtrado y disuelto en acetato de etilo (30 ml) y lavado con solución de bicarbonato de sodio acuosa saturada y salmuera, y secados sobre sulfato de sodio. El solvente fue reducido a 1/4 del volumen con lo cual precipitó el isómero indeseado. El precipitado fue filtrado y el filtrado fue secado para generar una mezcla 1:1 de isómeros en forma de un sólido blanco.

MS m/z=214,5 (M - H).

b. 4-cloro-2-metil-3-nitrobenzoato de metilo

35 Un matraz de fondo redondo fue cargado con ácido 4-cloro-2-metil-3-nitrobenzoico (11,00 g, 0,05102 mol), y metanol (110 ml, 2,7 mol). Se agregó cloruro de tionilo (4,5 ml, 0,061 mol) a 0°C y la reacción fue calentada a 75°C durante 3 horas. El solvente fue eliminado bajo presión reducida y el residuo fue disuelto en acetato de etilo (300 ml) y lavado con bicarbonato de sodio acuoso, agua y salmuera. Los extractos orgánicos fueron combinados y secados sobre sulfato de sodio y el solvente fue eliminado para generar los ésteres correspondientes.

MS m/z=230,3 (M + H).

c. 6-cloro-5-nitro-1H-isocromen-1-ona

40 Un tubo de presión fue cargado con 4-bromo-2-metil-3-nitrobenzoato de metilo (13 g, 57 mol), N,N-dimetilformamida (10 ml, 200 mol) y 1,1-dimetoxi-N,N-dimetilmetanamina (26,5 ml, 200 mol). La reacción fue calentada a 120°C durante 20 horas. Los solventes fueron eliminados y el residuo marrón resultante fue redissuelto en acetato de etilo (600 ml, 6000 mmol) y se agregó sílica gel 130-270 malla 60A (500 g, 6000 mmol) La reacción fue agitada con un

agitador mecánico durante 8 horas. La reacción fue filtrada, lavada con acetato de etilo (400 ml). Las fases orgánicas fueron combinadas y los solventes fueron eliminados bajo presión reducida. El residuo fue purificado por cromatografía instantánea para dar el producto deseado.

MS $m/z=226,2$ ($M + H$).

- 5 ^1H RMN (400 MHz; DMSO- d_6) δ 8,35 (d, $J=8,63$ Hz, 1H), 7,95 (d, $J=8,63$ Hz, 1H), 7,76 (d, $J=5,91$ Hz, 1H), 6,61 (d, $J=6,04$ Hz, 1H).

Producto intermedio 7

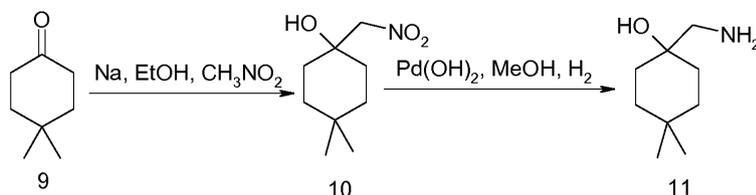
4,4-(Difluorociclohexil)metilamina clorhidrato



- 10 Se agitaron (4,4-difluorociclohexil)metilcarbamato de tert-butilo (0,43 g, 0,0016 mol) y 4M de cloruro de hidrógeno en 1,4-dioxano (4 ml, 0,02 mol) a 0°C durante 1 hora y luego a temperatura ambiente durante la noche. Los solventes fueron eliminados bajo vacío, el residuo fue lavado con éter, filtrado y secado en aire para generar el producto deseado en forma de un sólido blancuzco (292 mg, rendimiento 91%). ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 2,86 (d, $J = 7,0$ Hz, 2H), 2,13-2,06 (m, 2H), 1,88-1,72 (m, 5H), 1,39-1,28 (m, 2H).

- 15 Producto intermedio 8

1-(Aminometil)-4,4-dimetilciclohexanol



4,4-Dimetil-1-(nitrometil)ciclohexanol (10):

- 20 A una mezcla de sodio (0,2 g, 0,009 mol) y etanol (5 ml, 0,08 mol) se agregó una solución de nitrometano (0,77 g, 0,013 mol) y 4,4-dimetil-ciclohexanona (1 g, 0,008 mol) en etanol (1 ml) gota a gota. La mezcla fue agitada a temperatura ambiente durante 4 horas. Se agregaron ácido acético (2 ml) y agua (10 ml) y la mezcla fue concentrada bajo presión reducida. El residuo fue disuelto en acetato de etilo (200 ml), lavado con salmuera (30 ml x 3), secado sobre sulfato de sodio y purificado por cromatografía instantánea para generar el producto deseado en forma de un aceite claro (1,5 g, 90%).

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 4,44 (s, 2H), 1,61-1,56 (m, 6H), 1,27-1,23 (m, 2H), 0,97 (s, 3H), 0,91 (s, 3H).

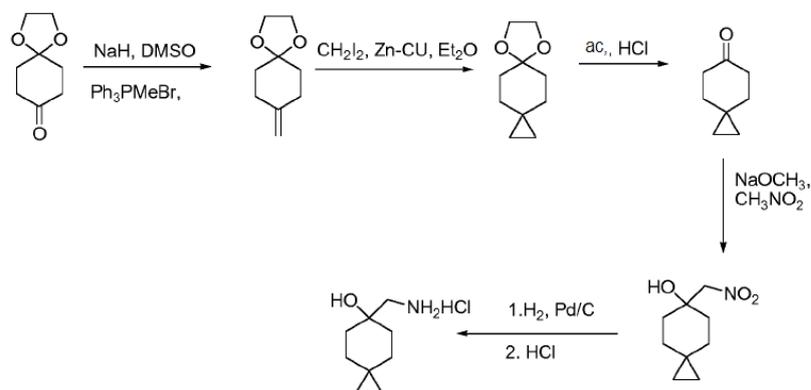
1-(Aminometil)-4,4-dimetilciclohexanol (11):

- 30 Una mezcla de 4,4-dimetil-1-(nitrometil)ciclohexanol (1,5 g, 0,0072 mol) e hidróxido de paladio (0,1 g, 0,0001 mol) en metanol (50 ml, 1 mol) fue agitado bajo hidrógeno (1 atmósfera) a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla fue filtrada y concentrada para generar el producto deseado en forma de un aceite claro (1,08 g, 95%).

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 3,49 (s, 2H), 1,56-1,36 (m, 6H), 1,22-1,20 (m, 2H), 0,95 (s, 3H), 0,88 (s, 3H)

Producto intermedio 9

6-(Aminometil)espiro[2.5]octan-6-ol clorhidrato



8-Metileno-1,4-dioxaspiro[4.5]decano

5 Se agregó 1,4-Dioxaspiro[4.5]decan-8-ona (21 g, 0,13 mol) en benceno seco (50 ml, 0,6 mol) a etilenotriphenilfosforano [preparado a partir de dimetil sodio y bromuro de metiltrifenilfosfonio (106 g, 0,291 mol) en sulfóxido de dimetilo (600 ml, 8 mol)]. La mezcla fue agitada a temperatura ambiente durante la noche y vertida en un embudo de separación que contenía éter etílico (500 ml) y agua (500 ml). La capa orgánica fue separada y la fase acuosa fue extraída con éter etílico (2 X 500 ml). Las capas etéreas combinadas fueron lavadas con agua (500 ml) y salmuera (500 ml), y secadas. Los solventes fueron eliminados bajo presión reducida y el residuo fue purificado por cromatografía instantánea para generar el producto deseado (18,0 g, 85%).

Espiro [2.5] octan-6-ona

15 Un matraz de fondo redondo de 250 ml equipado con un condensador a reflujo fue cargado con el par zinc-cobre (6,5 g, 0,05 mol) y éter etílico (100 ml). Se agregó yodo (0,42 g, 0,00165 mol) y se agitó hasta que desapareció el color marrón. Se agregó diyodometano (26,56 g, 0,09915 mol) y se calentó a reflujo durante 2 horas. Se agregó 8-Metileno-1,4-dioxaspiro[4.5]decano (10 g, 0,06 mol), disuelto en éter etílico (50 ml) y la mezcla fue calentada a reflujo durante la noche. Se agregó una porción adicional de diyodometano (26,56 g, 0,09915 mol), el par zinc-cobre (6,5 g, 0,05 mol) y yodo (0,42 g, 0,00165 mol) y la reacción fue continuada a reflujo durante la noche. La mezcla de reacción fue enfriada hasta temperatura ambiente, filtrada y el precipitado fue enjuagado con éter etílico (100 ml). Las soluciones etéreas combinadas fueron colocadas en un matraz de fondo redondo de 500 ml y se agregó ácido clorhídrico 1N (200 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Las capas fueron separadas y la capa acuosa fue extraída con éter etílico (2X200 ml). Las capas orgánicas combinadas fueron secadas y concentradas bajo presión reducida. El residuo fue purificado por cromatografía instantánea para producir el producto deseado (4,6 g, 50%).

6-(Nitrometil)espiro[2.5]octan-6-ol

25 A una solución 4M de metóxido de sodio (14 ml) en metanol (10 ml) se agregó una solución de espiro[2.5]octan-6-ona (4,6 g, 0,031 mol) y nitrometano (2,3 ml, 0,042 mol) en metanol (20 ml) a temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La reacción fue detenida con ácido acético (4,5 ml) y agua (50 ml) y los volátiles fueron eliminados bajo presión reducida. El residuo fue extraído con diclorometano (2X50 ml), y los extractos combinados fueron secados, filtrados y evaporados. El residuo fue purificado por cromatografía instantánea para generar el producto deseado (3,2 g, 52%).

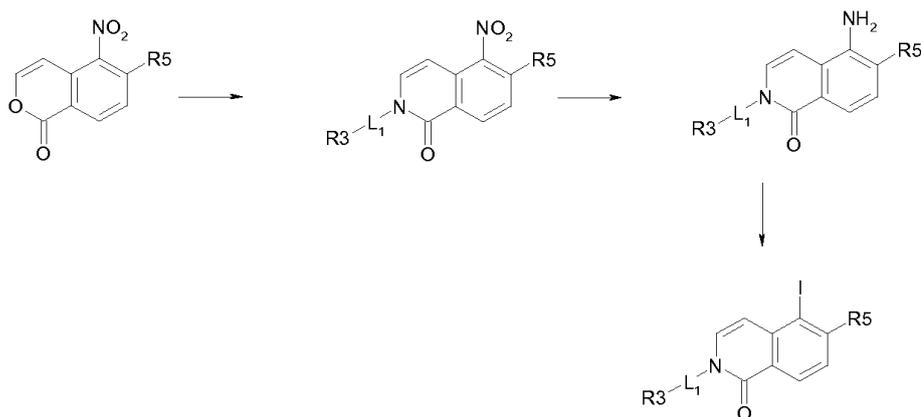
6-(Aminometil)espiro[2.5]octan-6-ol clorhidrato

35 Se disolvió 6-(Nitrometil)espiro[2.5]octan-6-ol (1,5 g, 0,0077 mol) en acetato de etilo (30 ml, 0,3 mol), y se agregó paladio al 10% sobre carbono (2 g). La mezcla fue agitada bajo hidrógeno (40~50 psi) durante la noche. La mezcla fue filtrada y los volátiles eliminados bajo presión reducida. El residuo fue disuelto en diclorometano (3 ml) y se agregó cloruro de hidrógeno 2M en éter (6 ml). El sólido fue filtrado y enjuagado con 10 ml de (diclorometano:Et₂O=1:4), y secado para generar la amina deseada en forma de un sólido blanco (1,0 g, 60%).

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 7,91 (br, 3H), 4,85 (s, 1H), 2,75 (br, 2H), 1,69-1,66 (m, 2H), 1,59-1,54 (m, 2H), 1,47-1,42 (m, 2H), 0,94-0,91 (m, 2H), 0,25-0,19 (m, 4H).

Producto intermedio 10

40 (Procedimiento de síntesis general para la preparación del derivado 5-yodo)



2-(L1-R³)-5-nitroisoquinolin-6-(R⁵)-1(2H)-ona

Un derivado 5-nitro-isocromen-1-ona (0,005 mol) y R³-L¹-NH₂ (0,02 mol) fueron sometidos a reflujo en metanol (20 ml, 0,5 mol) durante 2 horas. Los volátiles fueron eliminados bajo presión reducida y el residuo fue purificado a través de cromatografía instantánea para producir el intermedio nitro en forma de un sólido.

b. 5-Amino-2-(L1-R³)-6-(R⁵)-isoquinolin-1(2H)-ona

Un matraz de fondo redondo fue cargado con el derivado mencionado 5-nitroisoquinolin-1(2H)-ona (0,074 mol), etanol (500 ml, 8 mol), y la solución fue calentada a 85°C. Se agregó cloruro de amonio (50 g, 0,9 mol) en agua (150 ml, 8,3 mol) seguido por hierro (20 g, 0,3 mol) en dos porciones. La reacción fue agitada durante 1 hora y vertida sobre diclorometano (200 ml) y extraída. El solvente fue eliminado bajo presión reducida para generar el producto deseado.

Alternativamente, el derivado 5-nitroquinolin-1(2H)-ona (0,0022 mol) y dicloruro de estaño dihidrato (2 g, 0,009 mol) fueron agitados en tetrahidrofurano (20 ml, 0,2 mol) a temperatura ambiente durante la noche. Los volátiles fueron eliminados bajo presión reducida y el residuo fue disuelto en metanol, vertido sobre un lecho de alúmina básica y concentrado para generar el producto deseado.

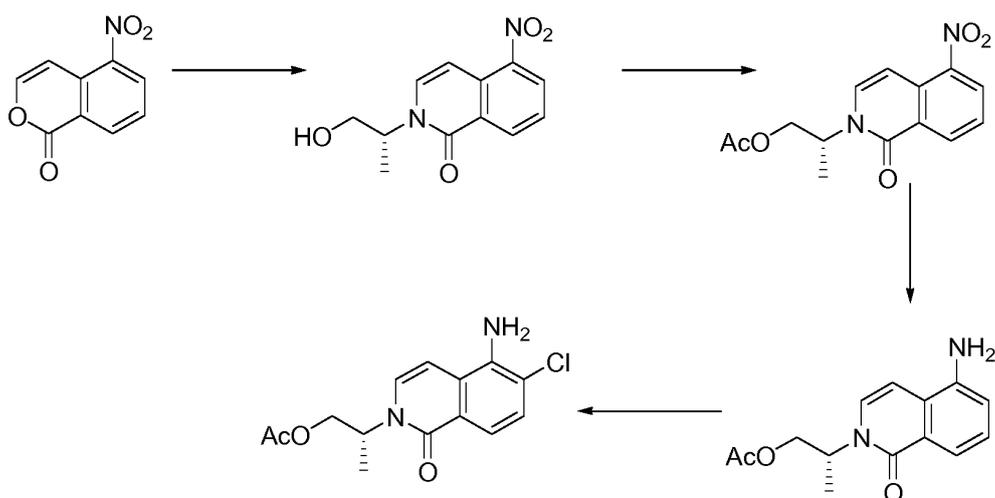
c. 2-(L1-R³)-6-(R⁵)-5-yodo-2H-isoquinolin-1-ona

El derivado amino isoquinolin-1(2H)-ona (0,002 mol) fue agregado a una solución de nitrito de sodio (0,5 g, 0,008 mol) en dimetil sulfóxido (10 ml, 0,1 mol) a 35°C seguido por yoduro de hidrógeno acuoso (2 ml, 0,02 mol) en dimetil sulfóxido (10 ml, 0,1 mol). La mezcla de reacción fue agitada a 35°C durante 1 hora enfriada a temperatura ambiente y neutralizada con carbonato de sodio acuoso saturado. La mezcla fue extraída con cloruro de metileno (3 x 20 ml) y los extractos combinados fueron lavados con salmuera y secados. El solvente fue eliminado bajo presión reducida y el residuo fue purificado por cromatografía instantánea para generar el intermedio yodo deseado.

Alternativamente, a una solución de nitrito de sodio (1 g, 0,02 mol), hexametildisilano (3 g, 0,02 mol), yodo (5 g, 0,02 mol) y cloruro de benciltrietilamonio (0,3 g, 0,001 mol) en tetracloruro de carbono (100 ml, 1 mol) se agregó una solución del derivado amino isoquinolin-1(2H)-ona (0,0070 mol) en cloruro de metileno (3 ml, 0,05 mol) a 0°C. La mezcla fue agitada a la misma temperatura durante 40 minutos y luego calentada hasta temperatura ambiente durante la noche. La mezcla fue purificada por cromatografía instantánea para generar el intermedio yodo deseado.

Producto intermedio 11

Acetato de (R)-2-(5-amino-6-cloro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo



(R)-2-(1-hidroxipropan-2-il)-5-nitroisoquinolin-1(2H)-ona:

5 Un matraz de fondo redondo de 250 ml fue cargado con 5-nitro-isocromen-1-ona (40 g, 0,2 mol), (2R)-2-Aminopropan-1-ol (18 g, 0,24 mol), trietilamina (100 ml, 0,7 mol) y metanol (500 ml, 10 mol) y la reacción se calentó a 88°C durante 1,5 horas. El producto se separó por precipitación por enfriamiento de la reacción y fue filtrado para generar el producto en forma de un sólido amarillo. (17,3 g, 40% de rendimiento).

Acetato de (R)-2-(5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo:

10 (R)-2-(1-hidroxipropan-2-il)-5-nitroisoquinolin-1(2H)-ona (19 g, 0,073 mol), anhídrido acético (10 g, 0,1 mol), trietilamina (30 g, 0,3 mol), 4,4-dimetilaminopiridina (200 mg, 0,002 mol) y cloruro de metileno (500 ml, 8 mol) fueron agitados a temperatura ambiente durante la noche. Los solventes fueron eliminados bajo presión reducida y el residuo fue purificado por cromatografía instantánea para generar el compuesto del título en forma de un aceite amarillo (21 g, 100% de rendimiento).

Acetato de (R)-2-(5-amino-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo:

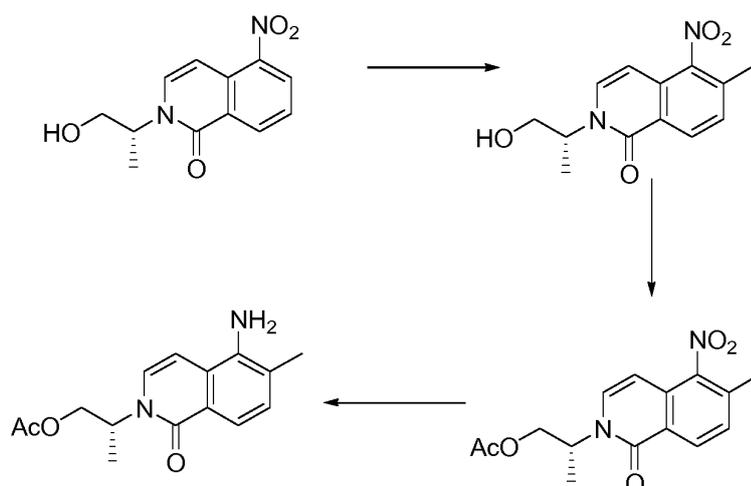
15 Un matraz de fondo redondo fue cargado con acetato de (R)-2-(5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo (24 g, 0,074 mol), etanol (500 ml, 8 mol), y se calentó a 85°C. Se agregó cloruro de amonio (50 g, 0,9 mol) en agua (150 ml, 8,3 mol) se agregó seguido por hierro (20 g, 0,3 mol) en dos porciones. La reacción fue agitada durante 1 hora y vertida sobre diclorometano (200 ml) y extraída. El solvente fue eliminado bajo presión reducida para generar el producto deseado en forma de un aceite rojo (19 g, 100%).

Acetato de (R)-2-(5-amino-6-cloro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo:

20 A una solución de ácido acético (R)-2-(5-amino-1-oxo-1H-isoquinolin-2-il)-propil éster (20 g, 0,07 mol) en tetracloruro de carbono (400 ml, 4 mol) a 60°C se agregó una solución de N-dorosuccinimida (11 g, 0,082 mol) en N,N-dimetilformamida (140 ml, 1,8 mol) en 50 minutos. La mezcla se sometió a agitación a 60°C durante 15 minutos adicionales. La mezcla enfriada fue diluida con diclorometano (400 ml), se lavó con bicarbonato de sodio (100 ml x 3), y se concentró bajo presión reducida. La mezcla se sometió a purificación por cromatografía instantánea para generar el producto deseado en forma de un aceite marrón.

Producto intermedio 12

Acetato de (R)-2-(5-amino-6-metil-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo:



(R)-2-(1-hidroxiopropan-2-il)-6-metil-5-nitroisquinolin-1(2H)-ona:

Un matraz de fondo redondo fue cargado con tert-butóxido de potasio (3,62 g, 0,0322 mol) y N,N-dimetilformamida (100 ml, 1 mol) y se agregó una solución de ácido acético, cloro-,1,1-dimetil éster (1,3 ml, 0,0089 mol) y (R)-2-(1-hidroxiopropan-2-il)-5-nitroisquinolin-1(2H)-ona (2,00 g, 0,00806 mol) en N,N-dimetilformamida (20 ml, 0,2 mol) a -20°C gota a gota durante un periodo de 8 minutos y la reacción fue agitada durante 45 minutos adicionales a la misma temperatura. La mezcla de reacción fue vertida sobre 4 ml de ácido clorhídrico y 80 ml de agua, y extraída con diclorometano, lavada con salmuera y secada. El solvente fue eliminado bajo presión reducida y el residuo fue utilizado en la siguiente reacción sin purificación (dos isómeros en la relación de 3:1). El residuo fue tratado con ácido trifluoroacético (10 ml, 0,1 mol) durante 30 minutos y el ácido trifluoroacético fue eliminado bajo presión reducida. El residuo fue agitado con carbonato de potasio (2,2 g, 0,016 mol) en N,N-dimetilformamida (10 ml) a 50°C durante 1 hora. La mezcla de reacción fue enfriada y diluida con acetato de etilo (400 ml), lavada con ácido clorhídrico 6N (50 ml x 4) y la salmuera (50 ml x 2) y secada. Los volátiles fueron eliminados bajo presión reducida y el residuo fue purificado por cromatografía de columna para generar el producto en forma de un sólido amarillo.

MS m/z=263,2 (M+H)

Acetato de (R)-2-(6-metil-5-nitro-1-oxoisquinolin-2(1H)-il)propilo:

A una solución de (R)-2-(1-hidroxiopropan-2-il)-6-metil-5-nitroisquinolin-1(2H)-ona (4,8 g, 0,018 mol) en cloruro de metileno (100 ml, 2 mol) se agregó anhídrido acético (7 g, 0,07 mol), trietilamina (10 g, 0,1 mol) y 4-Dimetilaminopiridina (20 mg, 0,0002 mol). La mezcla se sometió a agitación a temperatura ambiente durante 1 hora, se lavó con ácido clorhídrico 1N y salmuera, y se secó. Los volátiles fueron eliminados bajo presión reducida y el residuo fue purificado por cromatografía de columna para generar un aceite amarillo-marrón.

MS m/z=305,2 (M+H).

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 8,47 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,39 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,23 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 6,44 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 5,42-5,38 (m, 1H), 4,33-4,31 (m, 2H), 2,49 (s, 3H), 2,00 (s, 3H), 1,46 (d, J = 7,2 Hz, 3H).

Acetato de (R)-2-(5-amino-6-metil-1-oxoisquinolin-2(1H)-il)propilo:

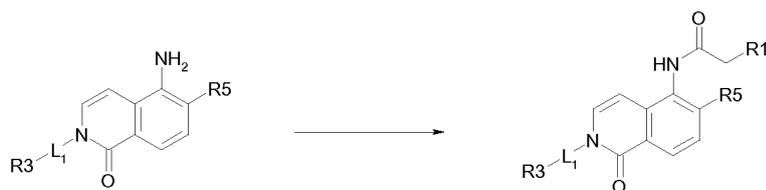
Un matraz de fondo redondo fue cargado con (R)-2-(6-metil-5-nitro-1-oxoisquinolin-2(1H)-il)propilo acetato (3,4 g, 0,010 mol), etanol (60 ml, 1 mol), y la solución se calentó a 85°C. Se agregó cloruro de amonio (6 g, 0,1 mol) en agua (15 ml, 0,83 mol) seguido por hierro (2 g, 0,04 mol) en dos porciones. La reacción fue agitada durante 1 hora y vertida sobre diclorometano (200 ml) y extraída. El solvente fue eliminado bajo presión reducida y el residuo se sometió a purificación por cromatografía instantánea para generar el producto deseado en forma de un aceite amarillo claro.

MS m/z=275,2 (M+H).

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 7,84 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 7,22 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 7,09 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 6,47 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 5,48-5,45 (m, 1H), 4,37-4,29 (m, 2H), 2,31 (s, 3H), 2,00 (s, 3H), 1,44 (d, J = 7,1 Hz, 3H)

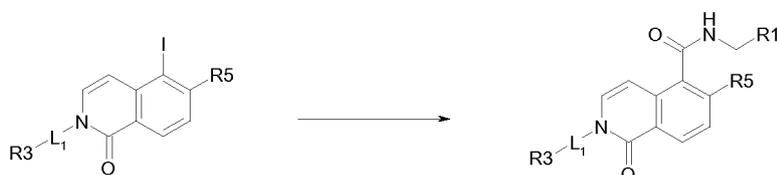
Procedimientos de síntesis generales para la preparación de los compuestos de la invención

Procedimiento 1



5 A una solución del ácido apropiado (0,003 mol) en cloruro de metileno (5 ml, 0,08 mol) se agregó cloruro de oxalilo (0,3 ml, 0,003 mol) y una gota de N,N-dimetilformamida a 0°C. La reacción fue agitada a esa temperatura durante 1 hora. El solvente fue eliminado bajo presión reducida y secado bajo nitrógeno. El residuo fue disuelto en cloruro de metileno (5 ml, 0,08 mol) y agregado a una solución de derivado de 5-amino-isoquinolona (0,0016 mol) en cloruro de metileno (5 ml, 0,08 mol) y N,N-dimetilformamida (2 ml, 0,02 mol). La mezcla de reacción fue agitada durante 2 horas. El solvente fue eliminado bajo presión reducida y el residuo fue disuelto en alcohol isopropílico/clorofomo 1:3 y lavado con ácido clorhídrico 1N. El solvente fue eliminado bajo presión reducida y el residuo fue purificado por cromatografía instantánea para generar el producto deseado.

10 Procedimiento 2



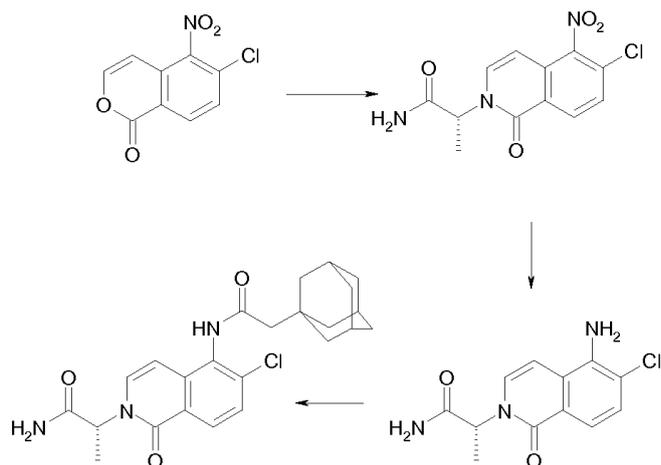
15 Un vial de procesamiento de 5 ml fue cargado con el derivado 5-yodo-1-oxoisoquinolina (0,0009 mol), la amina apropiada (0,0018 mol), hexacarbonilo molibdeno (500 mg, 0,002 mol), acetato de paladio (15 mg, 0,000067 mol), 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (500 mg, 0,003 mol) y 1,4-dioxano (4 ml, 0,04 mol). El recipiente fue sellado bajo aire y agitado a 110°C durante 1 hora, y enfriado hasta temperatura ambiente. La mezcla fue concentrada, disuelta en una pequeña cantidad de didorometano, purificada a través de cromatografía instantánea para generar el producto deseado.

Procedimientos de síntesis representativos

Procedimiento A

20 Compuesto 2 (no de la invención)

(R)-2-(6-Cloro-1-oxo-5-(2-adamantilacetamido)isoquinolin-2(1H)-il)propanamida



a. (R)-2-(6-Cloro-5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanamida

25 A una solución de 6-cloro-5-nitro-1H-isocromen-1-ona (950 mg, 0,0042 mol) en metanol (30 ml, 0,7 mol) se agregó trietilamina (0,64 ml, 0,0046 mol) y (R)-2-aminopropanamida clorhidrato (0,58 g, 0,0046 mol). La reacción fue calentada a 55°C durante la noche y el solvente fue eliminado bajo presión reducida. El residuo se sometió a purificación por cromatografía instantánea para generar el producto en forma de un sólido amarillo claro.

MS m/z = 296,4 (M + H).

b. (R)-2-(5-Amino-6-cloro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanamida

5 A una solución de (R)-2-(6-doro-5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanamida (120 mg, 0,00040 mol) en etanol (4 ml, 0,07 mol) se agregó cloruro de amonio (200 mg, 0,004 mol) en agua (4 ml, 0,2 mol). La reacción se calentó a 85°C y se agregó hierro (90 mg, 0,002 mol) en dos porciones separadas 5 minutos. La reacción fue agitada durante 30 minutos y se agregó acetato de etilo y se decantó. El solvente fue eliminado bajo presión reducida para generar el producto en forma de un sólido amarillo.

MS m/z = 265,5 (M + H).

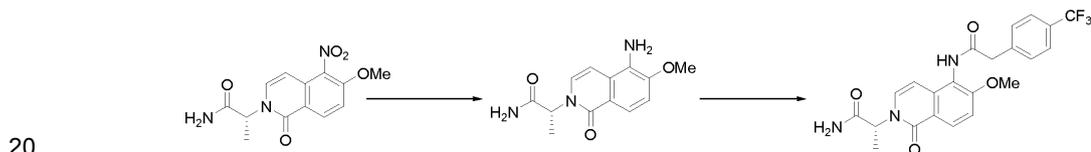
c. (R)-2-(6-Cloro-1-oxo-5-(2-adamantilacetamido)isoquinolin-2(1H)-il)propanamida

10 A una solución de ácido 1-adamantanoacético (600 mg, 0,003 mol) en cloruro de metileno (5 ml, 0,08 mol) se agregó cloruro de oxalilo (0,3 ml, 0,003 mol) y una gota de N,N-dimetilformamida a 0°C. La reacción fue agitada a esa temperatura durante 1 hora. El solvente fue eliminado bajo presión reducida y secado bajo nitrógeno. El residuo fue redisoluto en cloruro de metileno (5 ml, 0,08 mol) y agregado a una solución de (420 mg, 0,0016 mol) en cloruro de metileno (5 ml, 0,08 mol) y N,N-dimetilformamida (2 ml, 0,02 mol), y se agitó durante 2 horas. El solvente fue eliminado bajo presión reducida y el residuo fue disuelto en alcohol isopropílico/clorofomo 1:3 y lavado con ácido clorhídrico 1N. El solvente fue eliminado bajo presión reducida y el resto fue purificado por cromatografía instantánea para generar el producto en forma de un sólido blancuzco.

Procedimiento B

Compuesto 7 (no de la invención)

(R)-2-{6-Metoxi-1-oxo-5-[2-(4-trifluorometil-fenil)-acetilamino]-1H-isoquinolin-2-il}-propionamida



a. (R)-2-(5-Amino-6-metoxi-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanamida

25 Una mezcla de (R)-2-(6-metoxi-5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanamida (200 mg, 0,0007 mol), metanol (20 ml, 0,5 mol) y paladio, al 10% sobre carbón (21 mg, 0,00017 mol) se sometió a agitación bajo hidrógeno (1 atm) durante 3h. La mezcla de reacción fue filtrada sobre celita y el solvente fue eliminado para generar el producto en forma de un sólido marrón.

MS m/z = 263,3 (M + H).

b. (R)-2-(6-Metoxi-1-oxo-5-(2-(4-(trifluorometil)fenil)acetamido)isoquinolin-2(1H)-il)propanamida

30 Una mezcla de (R)-2-(5-amino-6-metoxi-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propanamida (98,34 mg, 0,0003764 mol), ácido 2-(4-(trifluorometil)fenil)acético (115,2 mg, 0,0005646 mol), N,N-diisopropiletilamina (163,9 ml, 0,0009409 mol), N,N,N',N'-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio hexafluorofosfato (357,8 mg, 0,0009409 mol) y N,N-dimetilformamida (2 ml, 0,02 mol) se sometió a agitación a temperatura ambiente durante la noche. El solvente fue eliminado bajo presión reducida y el residuo fue purificado por HPLC preparativa en fase reversa para generar el producto en forma de un sólido amarillo claro.

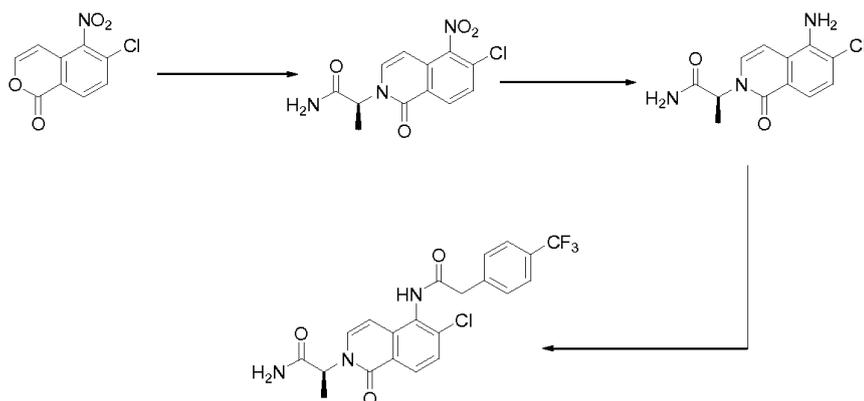
MS m/z = 448,3 (M + H).

35 ¹H RMN (400 MHz; DMSO-d₆) δ 9,7 (s, 1H), 8,17 (d, J=8,87 Hz, 1H), 7,74(d, J=7,76 Hz, 2H), 7,62 (d, J=7,76 Hz, 2H), 7,34-7,29 (m, 2H), 7,20 (s, 1H), 6,28 (d, J=8,48 Hz, 1H), 5,45 (q, J=7,07 Hz, 1H), 3,90 (s, 3H), 3,84 (s, 2H), 1,49 (d, J=7,39 Hz, 3H).

Procedimiento C

Compuesto 8 (no de la invención)

40 (S)-2-{6-Cloro-1-oxo-5-[2-(4-trifluorometil-fenil)-acetilamino]-1H-isoquinolin-2-il}-propionamida



a. (S)-2-(6-Cloro-5-nitro-1-oxisoquinolin-2(H)-il)propanamida

Una mezcla de 6-cloro-5-nitro-1H-isocromen-1-ona (230 mg, 0,00102 mol), (S)-2-aminopropanamida clorhidrato (127 mg, 0,00102 mol), trietilamina (142 μ l, 0,00102 mol) y metanol (20 ml, 0,5 mol) se sometió a agitación a 60°C durante 3 horas. El solvente fue eliminado bajo presión reducida y el residuo se sometió a purificación por cromatografía instantánea para generar el producto en forma de un sólido amarillo.

MS m/z = 262,3 (M + H).

b. (S)-2-(5-Amino-6-cloro-1-oxisoquinolin-2(1H)-il)propanamida

Una mezcla de (S)-2-(6-cloro-5-nitro-1-oxisoquinolin-2(1H)-il)propanamida (201 mg, 0,000679 mol), etanol (10 ml, 0,2 mol), cloruro de amonio (363,3 mg, 0,0067868 mol) y agua (10 ml, 0,6 mol) se calentó a 85°C. Se agregó hierro (152 mg, 0,00271 mol) en tres porciones, con 2 minutos de separación y la reacción se sometió a agitación a esa temperatura durante 1 hora. La mezcla fue vertida sobre diclorometano (150 ml) y las capas fueron separadas. La capa orgánica fue lavada con salmuera, secada, y el solvente fue eliminado bajo presión reducida para generar el producto en forma de un sólido amarillo claro.

MS m/z = 232,5 (M + H).

c. (S)-2-(6-Cloro-1-oxo-5-(2-(4-(trifluorometil)fenil)acetamido)isoquinolin-2(1H)-il)propanamida

Una mezcla de (S)-2-(5-amino-6-cloro-1-oxisoquinolin-2(1H)-il)propanamida (100,0 mg, 0,0003764 mol), ácido 2-(4-(trifluorometil)fenil)acético (115,2 mg, 0,0005646 mol), *N,N*-diisopropiletilamina (163,9 μ l, 0,0009409 mol), *N,N,N',N'*-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio hexafluorofosfato (357,8 mg, 0,0009409 mol) y *N,N*-dimetilformamida (2 ml, 0,02 mol) se sometió a agitación a 60°C durante 3 días. El solvente fue eliminado bajo presión reducida y el residuo fue purificado por HPLC preparativa en fase reversa para generar el producto en forma de un sólido amarillo claro.

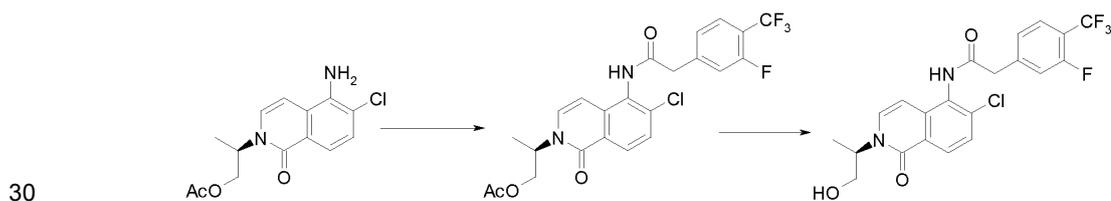
MS m/z = 452,1 (M + H).

¹H RMN (400 MHz; DMSO-d₆) δ 10,21 (s, 1H), 8,15 (d, J=8,68 Hz, 1H), 7,74 (d, J=7,76 Hz, 2H), 7,66-7,58 (m, 4H), 7,49 (d, J=7,95 Hz, 1H), 7,25 (s, 1H), 6,43 (d, J=7,50 Hz, 1H), 5,47-5,42 (q, J=7,07 Hz, 1H), 3,90 (s, 2H), 1,53 (d, J=7,39 Hz, 3H).

Procedimiento D

Compuesto 11 (no de la invención)

N-[6-Cloro-2-((R)-2-hidroxi-1-metil-etil)-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-2-(3-fluoro-4-trifluorometilfenil)-acetamida



a. (R)-2-(6-Cloro-5-(2-(3-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)acetamido)-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo acetato

5 Un vial fue cargado con acetato de (R)-2-(5-amino-6-cloro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo (160 mg, 0,00054 mol), cloruro de metileno (10 ml, 0,2 mol), ácido 2-(3-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)acético (145 mg, 0,000651 mol), *N,N,N',N'*-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio hexafluorofosfato (413 mg, 0,00108 mol), y *N,N*-diisopropiletamina (0,189 ml, 0,00108 mol), y se sometió a agitación a 40°C durante 2 días. El solvente fue eliminado bajo presión reducida y el residuo se sometió a purificación por cromatografía instantánea para generar el producto en forma de un aceite incoloro.

MS $m/z = 499,3$ (M+H)

b. (R)-N-(6-Cloro-2-(1-hidroxiopropan-2-il)-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-5-il)-2-(3-fluoro-4-(trifluorometil)fenil) acetamida

10 Un matraz de fondo redondo fue cargado con acetato de (R)-2-(6-cloro-5-(2-(3-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)acetamido)-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo (1.200 g, 0,002406 mol), carbonato de potasio (0,997 g, 0,00722 mol) y metanol (20 ml, 0,5 mol) y 2 gotas de agua. La reacción se sometió a agitación a temperatura ambiente durante 1 hora y se filtró sobre sulfato de sodio y se lavó con metanol. El solvente fue eliminado bajo presión reducida y el residuo fue purificado por cromatografía instantánea para generar el producto en forma de un sólido blanco.

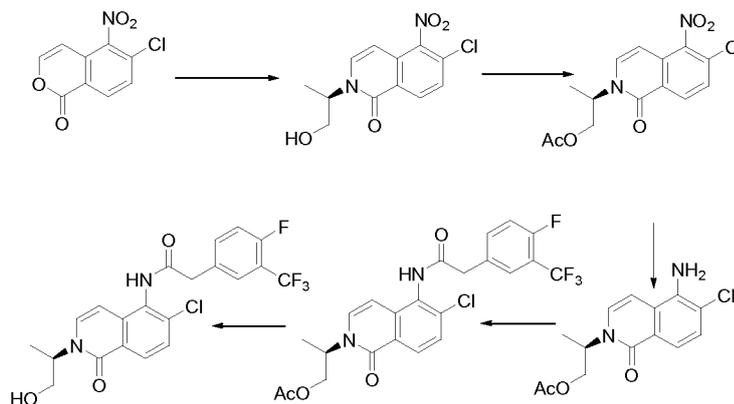
15 MS $m/z = 457,3$ (M+H).

^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6): δ_{ppm} 10,20 (s, 1H), 8,17 (d, $J=8,54$ Hz, 1H), 7,79 (t, $J=8,21$ Hz, 1H), 7,60 (d, $J=8,87$ Hz, 1H), 7,56-7,51 (m, 2H), 7,45 (d, $J=8,54$ Hz, 1H), 6,44 (d, $J=7,90$ Hz, 1H), 5,03-4,99 (m, 1H), 4,94 (t, $J=5,21$ Hz, 1H), 3,94 (s, 2H), 3,68-3,56 (m, 2H), 1,28 (d, $J=7,51$ Hz, 3H).

Procedimiento E

20 Compuesto 13 (no de la invención)

N-[6-Cloro-2-((R)-2-hidroxi-1-metil-etil)-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-2-(4-fluoro-3-trifluorometilfenil)-acetamida



a. (R)-6-Cloro-2-(1-hidroxiopropan-2-il)-5-nitroisoquinolin-1(2H)-ona

25 Un vial para microondas fue cargado con 6-cloro-5-nitro-1H-isocromen-1-ona (80,0 mg, 0,000355 mol), (2R)-2-aminopropan-1-ol (29 mg, 0,00039 mol), trietilamina (0,15 ml, 0,0011 mol) y metanol (4 ml, 0,1 mol), y fue calentado bajo irradiación por microondas a 100°C durante 30 minutos. El solvente fue eliminado bajo presión reducida y el residuo fue purificado por cromatografía instantánea para generar el producto deseado en forma de un sólido amarillo claro.

MS $m/z = 283,2$ (M + H).

30 ^1H RMN (400 MHz; DMSO- d_6) δ_{ppm} 8,43 (d, $J=8,86$ Hz, 1H), 7,80 (d, $J=8,86$ Hz, 1H), 7,75 (d, $J=7,98$ Hz, 1H), 6,36 (d, $J=7,09$ Hz, 1H), 5,03-4,86 (m, 2H), 3,63-3,52 (m, 2H), 1,30 (d, $J=7,0$ Hz, 3H).

b. acetato de (R)-2-(6-Cloro-5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo

35 Una mezcla de (R)-6-cloro-2-(1-hidroxiopropan-2-il)-5-nitroisoquinolin-1(2H)-ona (750,0 mg, 0,002653 mol), anhídrido acético (0,325 ml, 0,00345 mol), piridina (0,322 ml, 0,00398 mol) y cloruro de metileno (20 ml, 0,3 mol) se calentó a 45°C durante la noche. Los solventes fueron eliminados bajo presión reducida y secados para generar el producto en forma de un aceite amarillo espeso.

MS $m/z = 325,4$ (M + H).

^1H RMN (400 MHz; DMSO- d_6) δ_{ppm} 8,42 (d, $J=8,61$ Hz, 1H), 7,47 (d, $J=8,61$ Hz, 1H), 7,23 (d, $J=8,6$ Hz, 1H), 6,29 (d, $J=8,03$ Hz, 1H), 5,34-5,29 (m, 1H), 4,28-4,20 (m, 2H), 1,94 (s, 3H), 1,40 (d, $J=6,96$ Hz, 3H).

c. acetato de (R)-2-(5-Amino-6-doro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo

5 Un matraz de fondo redondo fue cargado con acetato de (R)-2-(6-doro-5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo (160,0 mg, 0,0004927 mol) y etanol (7 ml, 0,1 mol), y la reacción se calentó a 85°C. Se agregó cloruro de amonio (264 mg, 0,00493 mol) en agua (7 ml, 0,4 mol), seguido por hierro (110 mg, 0,0020 mol) en dos porciones. La reacción se sometió a agitación a esa temperatura durante hora. La mezcla de reacción fue vertida entonces sobre diclorometano (60 ml) y extraída. Los extractos fueron lavados con salmuera, secados, y el solvente fue eliminado bajo presión reducida para generar el producto en forma de un sólido incoloro.

MS m/z = 295,5 (M + H).

d. acetato de (R)-2-(6-Cloro-5-(2-(4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil)acetamido)-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo

10 Un vial de reacción fue cargado con acetato de (R)-2-(5-amino-6-cloro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo (210 mg, 0,00071 mol), ácido 2-(4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil)acético (300 mg, 0,001 mol), N,N,N',N'-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio hexafluorofosfato (600 mg, 0,002 mol), N,N-diisopropiletilamina (600 µl, 0,003 mol) y se sometió a agitación a 50°C durante 5 días. El solvente fue eliminado bajo presión reducida y el residuo se sometió a purificación por cromatografía instantánea para generar el producto en forma de un aceite amarillo claro.

15 MS m/z = 499,3 (M + H).

e. (R)-N-(6-Cloro-2-(1-hidroxipropan-2-il)-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-5-il)-2-(4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil) acetamida

20 Un matraz de fondo redondo fue cargado con acetato de (R)-2-(6-cloro-5-(2-(4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil)acetamido)-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo (250 mg, 0,00050 mol), carbonato de potasio (100 mg, 0,00075 mol) y metanol (8 ml, 0,2 mol) y 2 gotas de agua. La reacción se sometió a agitación a temperatura ambiente durante 30 minutos. La mezcla de reacción fue filtrada y lavada con metanol. El solvente fue eliminado bajo presión reducida y el residuo fue purificado por HPLC preparativa en fase reversa para generar el producto en forma de un sólido blancuzco.

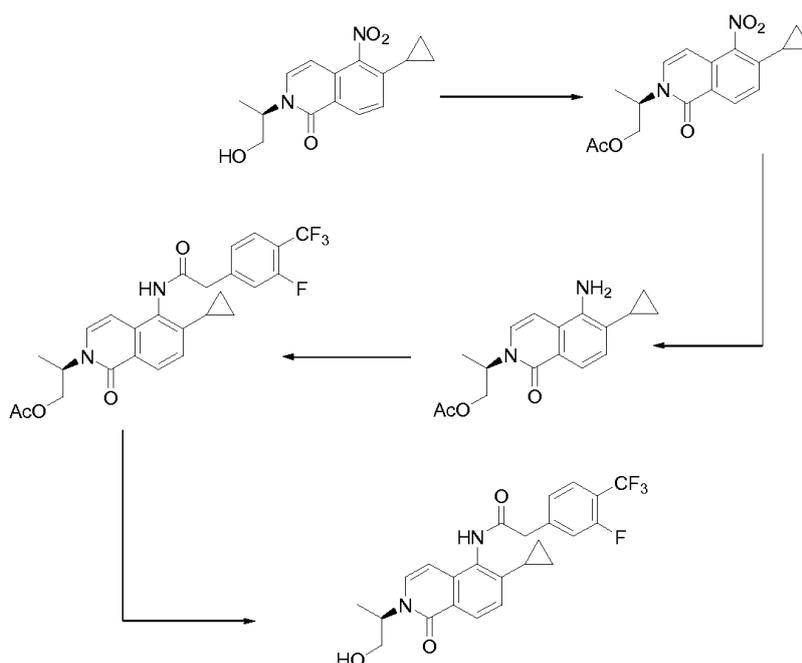
MS m/z = 457,4 (M + 1).

25 ¹H RMN (400 MHz; DMSO-d6) δ □ 10,17 (s, 1H), 8,16 (d, J=8,85 Hz, 1H), 7,82 (d, J=7,76 Hz, 1H), 7,72-7,74 (m, 1H), 7,59 (d, J=8,84 Hz, 1H), 7,54-7,49 (m, 2H), 6,42 (d, J=7,50 Hz, 1H), 5,03-4,93 (m, 2H), 3,90 (s, 2H), 3,66-3,56 (m, 2H), 1,28 (d, J=7,63 Hz, 3H).

Procedimiento F

Compuesto 17 (no de la invención)

30 N-[6-Ciclopopil-2-((R)-2-hidroxi-1-metil-etil)-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-2-(3-fluoro-4-trifluorometil-fenil)-acetamida



a. acetato de (R)-2-(6-Ciclopropil-5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo

5 Un matraz de fondo redondo fue cargado con (R)-6-ciclopropil-2-(1-hidroxipropan-2-il)-5-nitroisoquinolin-1(2H)-ona (30 mg, 0,0001 mol), anhídrido acético (0,015 ml, 0,00016 mol), piridina (0,015 ml, 0,00019 mol) y cloruro de metileno (4 ml, 0,06 mol), y se sometió a agitación a temperatura ambiente durante la noche. El solvente fue eliminado bajo presión reducida y el producto fue llevado a la siguiente etapa sin purificación.

MS m/z = 331,5 (M + H).

b. acetato de (R)-2-(5-Amino-6-ciclopropil-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo

10 Un matraz de fondo redondo fue cargado con (R)-2-(6-ciclopropil-5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo acetato (28 mg, 0,000085 mol), etanol (10 ml, 0,2 mol) y se agregó paladio, al 10% sobre carbón (1,0 mg, 0,000085 mol). El matraz fue evacuado y purgado con hidrógeno dos veces y la reacción se sometió a agitación bajo hidrógeno (1 atm) durante 2 horas. La reacción fue filtrada sobre celita y el solvente fue eliminado para generar el producto.

MS m/z = 301,2 (M + H).

c. acetato de (R)-2-(6-Ciclopropil-5-(2-(3-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)acetamido)-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo

15 Un vial de reacción fue cargado con (R)-2-(5-amino-6-ciclopropil-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo acetato (23 mg, 0,0000766 mol), ácido 2-(3-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)acético (26 mg, 0,00011 mol), N,N,N',N'-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio hexafluorofosfato (73 mg, 0,00019 mol), N,N-diisopropiletilamina (33 µl, 0,00019 mol) y cloruro de metileno (2 ml, 0,03 mol) y la reacción se sometió a agitación a 40°C durante la noche. El solvente fue eliminado bajo presión reducida y el residuo fue purificado por cromatografía instantánea para generar el producto en forma de un sólido amarillo claro.

20 MS m/z = 505,3 (M + H).

d. (R)-N-(6-Ciclopropil-2-(1-hidroxipropan-2-il)-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-5-il)-2-(3-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)acetamida

25 Un matraz de fondo redondo fue cargado con (R)-2-(6-ciclopropil-5-(2-(3-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)acetamido)-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo acetato (23 mg, 0,000046 mol), carbonato de potasio (9,4 mg, 0,000068 mol) y metanol (2 ml, 0,05 mol) y 2 gotas de agua y la reacción fue agitada durante 30 minutos. La mezcla de reacción fue filtrada sobre celita y el solvente fue eliminado bajo presión reducida. El residuo fue purificado por HPLC preparativa en fase reversa para generar el producto.

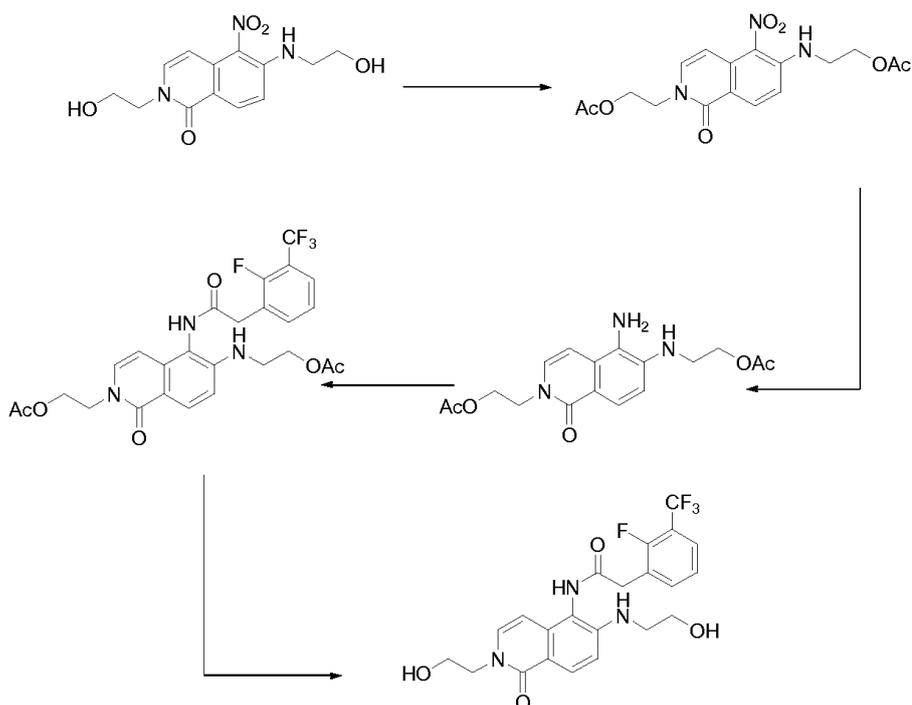
MS m/z = 463,5 (M + H).

30 ¹H RMN (400 MHz; Acetona-d₆) δ 9,02 (s, 1H), 8,03 (d, J=8,15 Hz, 1H), 7,61 (t, J=7,52 Hz, 1H), 7,42 (d, J=5,01 Hz, 1H), 7,39 (s, 1H), 7,24 (d, J=7,52 Hz, 1H), 6,91 (d, J=8,15 Hz, 1H), 6,36 (d, J=8,15 Hz, 1H), 4,99-4,97 (m, 1H), 3,93 (s, 2H), 3,68-3,64 (m, 2H), 2,04-1,94 (m, 1H), 1,24 (d, J=7,32 Hz, 3H), 0,81-0,77 (m, 2H), 0,60-0,56 (m, 2H).

Procedimiento G

Compuesto 18 (no de la invención)

35 2-(2-Fluoro-3-trifluorometil-fenil)-N-[2-(2-hidroxi-etil)-6-(2-hidroxi-etilamino)-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-acetamida



a. 2-(2-(2-Acetoxyetil)-5-nitro-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-6-ilamino)acetato de etilo

5 Un matraz de fondo redondo fue cargado con 2-(2-hidroxietil)-6-(2-hidroxietilamino)-5-nitroisoquinolin-1(2H)-ona (300,0 mg, 0,0010 mol), anhídrido acético (0,24 ml, 0,0026 mol), piridina (0,33 ml, 0,0041 mol) y cloruro de metileno (10 ml, 0,2 mol) y se calentó a 45°C durante la noche. El solvente fue eliminado bajo presión reducida para generar el producto el cual fue usado en la siguiente reacción sin purificación adicional.

MS m/z = 378,2 (M + H).

b. 2-[6-(2-acetoxi-etilamino)-5-amino-1-oxo-1H-isoquinolin-2-il]-etil éster del ácido acético

10 Una mezcla de 2-(2-(2-acetoxyetil)-5-nitro-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-6-ilamino)acetato de etilo (350 mg, 0,00093 mol), etanol (20 ml, 0,3 mol), cloruro de amonio (496,1 mg, 0,009275 mol) y agua (10 ml, 0,6 mol) se agregó a 85°C. Se agregó hierro (207 mg, 0,00371 mol) en dos porciones, con cinco minutos de separación, y se sometió a agitación a esa temperatura durante 1 hora. La mezcla de reacción fue vertida entonces sobre cloruro de metileno (100 ml) y las capas fueron separadas. La capa orgánica fue lavada con salmuera y secada. El solvente fue eliminado bajo presión reducida y el producto fue usado en la siguiente etapa sin purificación.

15 MS m/z = 348,5 (M + H).

c. 2-(2-(2-Acetoxyetil)-5-(2-(2-fluoro-3-(trifluorometil)fenil)acetamido)-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-6-ilamino) acetato de etilo

20 Un vial de reacción fue cargado con 2-[6-(2-acetoxi-etilamino)-5-amino-1-oxo-1H-isoquinolin-2-il]-etil éster del ácido acético (100,00 mg, 0,000 28788 mol), ácido 2-(2-fluoro-3-(trifluorometil)fenil)acético (76,74 mg, 0,0003454 mol), N,N,N',N'-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio hexafluorofosfato (274 mg, 0,000720 mol), N,N-diisopropiletilamina (0,125 ml, 0,000720 mol) y cloruro de metileno (3 ml, 0,05 mol). La reacción se calentó a 40°C durante 5h. El solvente fue eliminado bajo presión reducida y el residuo fue purificado por cromatografía instantánea para generar el producto en forma de un sólido blancuzco.

MS m/z = 552,3 (M + H).

25 d. 2-(2-Fluoro-3-(trifluorometil)fenil)-N-(2-(2-hidroxietil)-6-(2-hidroxietilamino)-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-5-il)acetamida

30 Un matraz de fondo redondo fue cargado con 2-(2-(2-acetoxyetil)-5-(2-(2-fluoro-3-(trifluorometil)fenil)acetamido)-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-6-ilamino)acetato de etilo (120 mg, 0,00022 mol), carbonato de potasio (45 mg, 0,00033 mol) y metanol (3 ml, 0,07 mol) y 2 gotas de agua. La reacción se sometió a agitación a temperatura ambiente durante 30 minutos se filtró sobre sulfato de sodio, y el solvente fue eliminado bajo presión reducida. El residuo se sometió a purificación por cromatografía instantánea para generar el producto en forma de un sólido blanco.

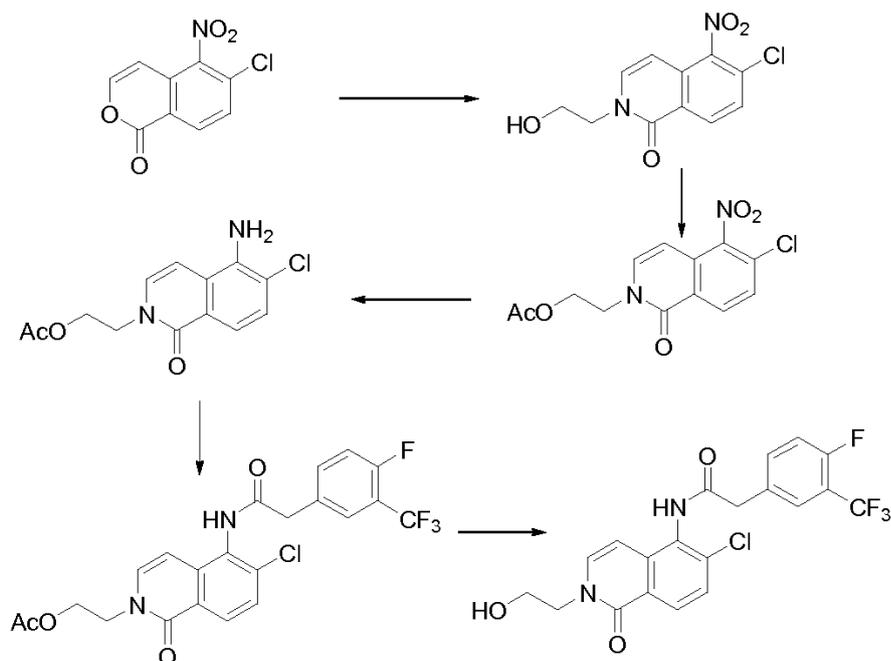
MS m/z = 468,4 (M + H).

^1H RMN (400 MHz; DMSO- d_6) δ □ □ 9,45 (s, 1H), 7,98 (d, $J=8,95$ Hz, 1H), 7,79 (t, $J=7,45$ Hz, 1H), 7,70 (t, $J=7,09$ Hz, 1H), 7,40 (t, $J=7,83$ Hz, 1H), 7,22 (d, $J=7,83$ Hz, 1H), 6,91 (d, $J=9,08$ Hz, 1H), 6,16 (d, $J=7,73$ Hz, 1H), 5,64 (t, $J=5,72$ Hz, 1H), 4,84 (t, $J=5,33$ Hz, 1H), 4,76 (t, $J=5,48$ Hz, 1H), 3,96 (s, 2H), 3,91 (t, $J=5,27$ Hz, 2H), 3,62-3,53 (m, 4H), 3,27 (q, $J=6,15$ Hz, 2H).

5 Procedimiento H

Compuesto 19 (no de la invención)

N-[6-Cloro-2-(2-hidroxi-etil)-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-2-(4-fluoro-3-trifluorometilfenil)-acetamida



a. 6-Cloro-2-(2-hidroxietil)-5-nitroisquinolin-1(2H)-ona

- 10 Un vial para microondas fue cargado con 6-cloro-5-nitro-1H-isocromen-1-ona (1,0 g, 0,00443 mol), etanolamina (0,401 ml, 0,00665 mol), trietilamina (1,24 ml, 0,00886 mol) y metanol (30 ml, 0,7 mol) y la reacción fue sometida a microondas a 100°C durante 1 hora. El solvente fue eliminado bajo presión reducida y el residuo fue purificado por cromatografía instantánea para generar el producto en forma de un sólido amarillo.

MS m/z = 269,4 (M+H).

- 15 ^1H RMN (400 MHz; CDCl_3) δ □ □ 8,41 (d, $J=8,56$ Hz, 1H), 7,52 (d, $J=8,56$ Hz, 1H), 7,33 (d, $J=8,4$ Hz, 1H), 6,31 (d, $J=8,56$ Hz, 1H), 4,17 (t, $J=44,88$ Hz, 2H), 3,99 (t, $J=5,11$ Hz, 2H), 2,55 (bs, 1H).

b. 2-(6-Cloro-5-nitro-1-oxoisquinolin-2(1H-il)acetato de etilo

- 20 Un matraz de fondo redondo fue cargado con 6-cloro-2-(2-hidroxietil)-5-nitroisquinolin-1(2H)-ona (400,0 mg, 0,00149 mol), anhídrido acético (0,21 ml, 0,0022 mol), piridina (0,18 ml, 0,0022 mol) y cloruro de metileno (20 ml, 0,2 mol) y la reacción se sometió a agitación a temperatura ambiente durante la noche. El solvente fue eliminado bajo presión reducida para generar el producto en forma de un sólido amarillo.

MS m/z = 311,3 (M+H).

c. 2-(5-Amino-6-cloro-1-oxoisquinolin-2(1H-il)acetato de etilo

- 25 Un matraz de fondo redondo fue cargado con 2-(6-cloro-5-nitro-1-oxoisquinolin-2(1H-il)acetato de etilo (450,00 mg, 0,0014484 mol), etanol (20 ml, 0,3 mol), y cloruro de amonio (774,8 mg, 0,01448 mol) en agua (10 ml, 0,6 mol) se agregó at 85°C, seguido por hierro (324 mg, 0,00579 mol) en dos porciones. La reacción se sometió a agitación a esa temperatura durante 45 minutos y luego se vertió sobre cloruro de metileno (200 ml) y se extrajo. El solvente fue eliminado bajo presión reducida para generar el producto puro en forma de un sólido amarillo claro.

MS m/z = 281,3 (M+H)

- 30 d. 2-(6-Cloro-5-(2-(4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil)acetamido)-1-oxoisquinolin-2(1H-il)acetato de etilo

- 5 Un vial de reacción fue cargado con 2-(5-amino-6-cloro-1-oxisoquinolin-2(1H)-il)acetato de etilo (60,0 mg, 0,000214 mol), ácido 2-(4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil)acético (57,0 mg, 0,000256 mol), N,N,N',N'-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio hexafluorofosfato (203 mg, 0,000534 mol), N,N-diisopropiletilamina (0,093 ml, 0,00053 mol) y cloruro de metileno (3 ml, 0,05 mol), y la mezcla de reacción se sometió a agitación a 45°C durante 4 días. El solvente fue eliminado bajo presión reducida y el residuo se sometió a purificación por cromatografía instantánea para generar el producto en forma de un sólido amarillo claro.

MS m/z = 485,2 (M+H)

e. N-(6-Cloro-2-(2-hidroxietil)-1-oxo-1,2-dihidroisquinolin-5-il)-2-(4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil)acetamida

- 10 Un matraz de fondo redondo fue cargado con 2-(6-cloro-5-(2-(4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil)acetamido)-1-oxisoquinolin-2(1H)-il)acetato de etilo (80,0 mg, 0,000165 mol), carbonato de potasio (34,2 mg, 0,000248 mol), metanol y 2 gotas de agua y la reacción fue agitada durante 20 minutos a temperatura ambiente. La reacción fue filtrada sobre sulfato de sodio y celita y lavada con metanol. El solvente fue eliminado bajo presión reducida y el residuo fue purificado por HPLC preparativa en fase reversa para generar el producto en forma de un sólido amarillo pálido.

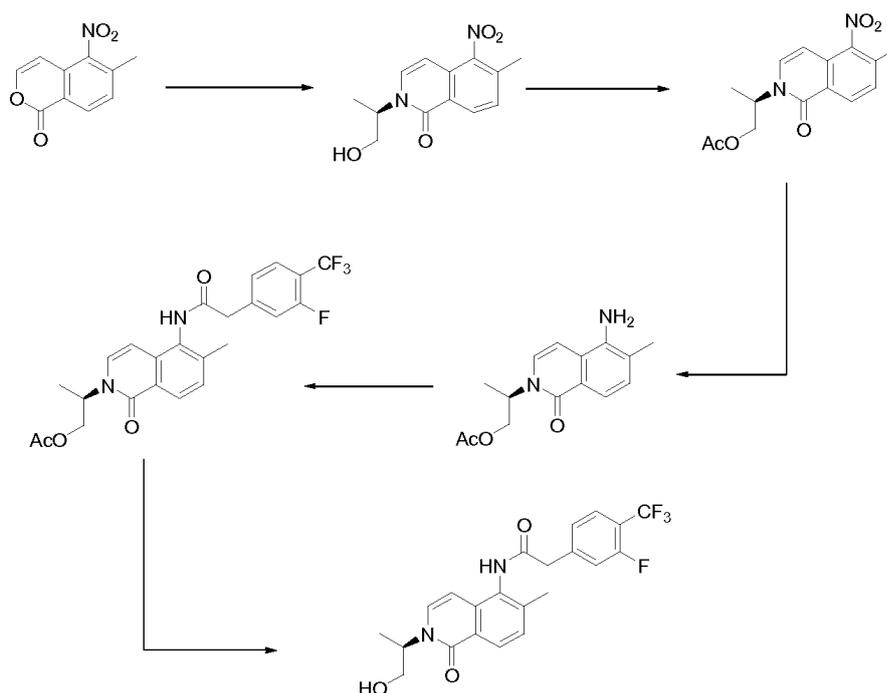
- 15 MS m/z = 443,3 (M+H)

^1H RMN (400 MHz; DMSO-d₆) δ 10,18 (s, 1H), 8,15 (d, J=8,81 Hz, 1H), 7,82 (d, J=6,7 Hz, 1H), 7,77-7,74 (m, 1H), 7,59 (d, J=8,81 Hz, 1H), 7,52 (t, J=9,52 Hz, 1H), 7,46 (d, J=7,40 Hz, 1H), 6,40 (d, J=7,59 Hz, 1H), 4,88 (t, J=5,0 Hz, 1H), 4,00 (t, J=5,55 Hz, 2H), 3,89 (s, 2H), 3,65 (q, J=5,55 Hz, 2H).

Procedimiento I

- 20 Compuesto 21 (no de la invención)

N-[6-Metil-2-((R)-2-hidroxi-1-metil-etil)-1-oxo-1,2-dihidro-isquinolin-5-il]-2-(3-fluoro-4-trifluorometilfenil)-acetamida



a. (R)-2-(1-Hidroxipropán-2-il)-6-metil-5-nitroisquinolin-1(2H)-ona

- 25 Un matraz de fondo redondo fue cargado con 6-metil-5-nitro-1H-isocromen-1-ona (260,00 mg, 0,0012673 mol), (2R)-2-aminopropan-1-ol (143 mg, 0,00190 mol), trietilamina (1,6 ml, 0,011 mol) y metanol (5 ml, 0,1 mol) y la reacción se calentó a 80°C durante la noche. El solvente fue eliminado bajo presión reducida y el residuo fue purificado por cromatografía instantánea para generar el producto en forma de un sólido amarillo claro.

MS m/z = 263,4 (M+H).

b. acetato de (R)-2-(6-Metil-5-nitro-1-oxo-1,2-dihidroisquinolin-2(1H)-il)propilo

- 30 Una mezcla de (R)-2-(1-hidroxipropán-2-il)-6-metil-5-nitroisquinolin-1(2H)-ona (100,0 mg, 0,0003813 mol), piridina

(0,062 ml, 0,00076 mol), anhídrido acético (0,0432 ml, 0,000458 mol) y cloruro de metileno (5 ml, 0,08 mol) se sometió a agitación a temperatura ambiente durante la noche. El solvente fue eliminado bajo presión reducida, y el producto resultante fue secado bajo vacío (aceite amarillo) y fue usado en la siguiente etapa sin purificación alguna.

MS m/z= 305,4 (M+H).

5 c. acetato de (R)-2-(5-Amino-6-metil-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo

Un matraz de fondo redondo fue cargado con acetato de (R)-2-(6-metil-5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo (110,0 mg, 0,0003615 mol) y etanol (10 ml, 0,2 mol) y fue calentado a 85°C. Se agregó cloruro de amonio (193,4 mg, 0,003615 mol) en agua (2 ml, 0,1 mol), seguido por hierro (80,7 mg, 0,00144 mol) en dos porciones. La mezcla resultante fue agitada durante 30 minutos a la misma temperatura. La reacción fue vertida sobre diclorometano (50 ml) y extraída, se lavó con salmuera y se secó. El solvente fue eliminado bajo presión reducida para generar el producto en forma de un aceite.

MS m/z= 275,4 (M+H).

15 d. acetato de (R)-2-(5-(2-(3-Fluoro-4-(trifluorometil)fenil)acetamido)-6-metil-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo

Un matraz de fondo redondo fue cargado con acetato de (R)-2-(5-amino-6-metil-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo (175 mg, 0,000638 mol), ácido 2-(3-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)acético (210 mg, 0,00096 mol), N,N,N',N'-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio hexafluorofosfato (610 mg, 0,0016 mol), N,N-diisopropiletilamina (0,28 ml, 0,0016 mol) y N,N-dimetilformamida (8 ml, 0,1 mol). La mezcla de reacción se sometió a agitación a 45°C durante 24 horas. La reacción fue detenida con agua y extraída con acetato de etilo, lavada con bicarbonato de sodio, salmuera, y secada. El solvente fue eliminado bajo presión reducida y el residuo se sometió a purificación por cromatografía instantánea para generar el producto en forma de un aceite amarillo claro.

MS m/z = 479,3 (M+H)

20 e. (R)-2-(3-Fluoro-4-(trifluorometil)fenil)-N-(2-(1-hidroxiopropan-2-il)-6-metil-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-5-il)acetamida

Un matraz de fondo redondo fue cargado con acetato de (R)-2-(5-(2-(3-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)acetamido)-6-metil-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo (300,00 mg, 0,62704 mmol), carbonato de potasio (260 mg, 0,0019 mol), metanol (20 ml, 0,4 mol) y 2 gotas de agua. La reacción se sometió a agitación a temperatura ambiente durante 20 minutos. La reacción fue detenida con agua y extraída con acetato de etilo, fue lavada con bicarbonato de sodio, salmuera, y secada. El solvente fue eliminado bajo presión reducida para generar el producto en forma de un sólido amarillo claro.

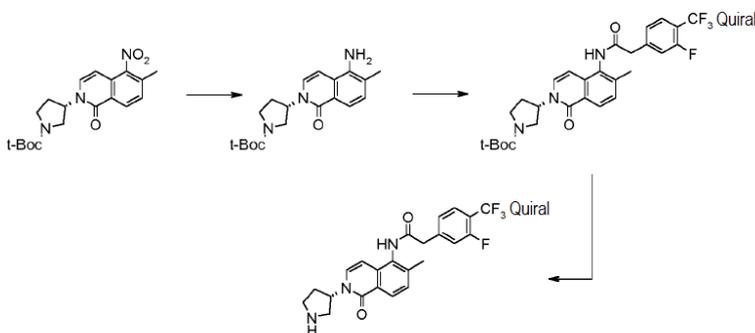
MS m/z = 437,5 (M+H).

30 ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ 9,91 (s, 1H), 8,07 (d, J=8,45 Hz, 1H), 7,79 (t, J=7,85 Hz, 1H), 7,53 (d, J=12,68 Hz, 1H), 7,45 (d, J=7,85 Hz, 2H), 7,37 (d, J=8,45 Hz, 1H), 6,44 (d, J=7,66 Hz, 1H), 5,05-5,00 (m, 1H), 4,93 (t, J=5,66 Hz, 1H), 3,92 (s, 2H), 3,67-3,51 (m, 2H), 2,22 (s, 3H), 1,28 (d, J=7,51 Hz, 3H).

Procedimiento J

Compuesto 29 (no de la invención)

35 2-(3-Fluoro-4-trifluorometil-fenil)-N-((S)-6-metil-1-oxo-2-pirrolidina-3-il-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il)-acetamida



a. 3-(5-amino-6-metil-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)pirrolidina-1-carboxilato de (S)-tert-Butilo

40 Un matraz de fondo redondo fue cargado con 3-(6-metil-5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)pirrolidina-1-carboxilato de (S)-tert-butilo (500,0 mg, 0,001339 mol), etanol (5 ml, 0,08 mol) y se agregó cloruro de amonio (716,3 mg, 0,01339 mol) en agua (3 ml, 0,2 mol) a 85°C. Se agregó hierro (299 mg, 0,00536 mol) en porciones y se sometió a agitación

a esa temperatura durante 30 minutos, se vertió sobre cloruro de metileno (50 ml) se sometió a extracción. El solvente fue eliminado bajo presión reducida para generar el producto puro en forma de un sólido amarillo claro.

b. 3-(5-(2-(3-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)acetamido)-6-metil-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)pirrolidina-1-carboxilato de (S)-tert-Butilo

5 Un vial de reacción fue cargado con 3-(5-amino-6-metil-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)pirrolidina-1-carboxilato de (S)-tert-butilo (150,00 mg, 0,043678 mmol), ácido 2-(3-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)acético (116,4 mg, 0,05241 mmol), N,N,N',N'-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio hexafluorofosfato (420 mg, 1,1 mmol), N,N-diisopropiletamina (0,19 ml, 1,1 mmol) y N,N-dimetilformamida (2 ml, 20 mmol) y la reacción se sometió a agitación a 45°C durante la noche. El solvente fue eliminado bajo presión reducida y el residuo fue purificado por cromatografía instantánea para generar el producto en forma de un aceite amarillo claro.

c. (S)-2-(3-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)-N-(6-metil-1-oxo-2-(pirrolidin-3-il)-1,2-dihidroisoquinolin-5-il)acetamida

15 Un matraz de fondo redondo fue cargado con 3-(5-(2-(3-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)acetamido)-6-metil-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)pirrolidina-1-carboxilato de (S)-tert-butilo (100,0 mg, 0,0001826 mol), cloruro de metileno (3 ml, 0,05 mol) y se agregó ácido clorhídrico 2M en éter (4 ml) y la reacción se sometió a agitación a 45°C durante 3 horas. El solvente fue eliminado bajo presión reducida y el residuo fue purificado por HPLC preparativa en fase reversa para generar el producto en forma de un sólido blanco.

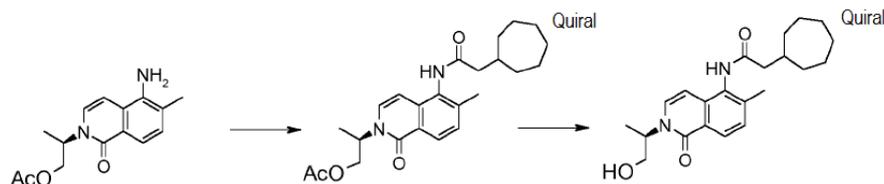
MS m/z = 448,3 (M+H)

20 ¹H RMN (400 MHz; DMSO-d₆) δ □ □ 9,92 (s, 1H), 8,08(d, J=8,79 Hz, 1H), 7,79 (t, J=8,16 Hz, 1H), 7,55-7,51 (m, 2H), 7,44 (d, J=8,16 Hz, 1H), 7,38 (d, J=8,79 Hz, 1H), 6,49 (d, J=6,90 Hz, 1H), 5,34-5,31 (m, 1H), 3,92 (s, 2H), 3,14-3,5 (m, 2H), 2,90-2,78 (m, 2H), 2,22 (s, 3H), 2,22-2,19 (m, 1H), 2,00-1,98 (m, 1H), 1,72-1,68 (m, 1H).

Procedimiento K

Compuesto 31 (no de la invención)

2-Adamantan-1-il-N-[2-((R)-2-hidroxi-1-metil-etil)-6-metil-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-acetamida



25 a. (R)-2-[5-(2-adamantan-1-il-acetilamino)-6-metil-1-oxo-1H-isoquinolin-2-il]-propil éster del ácido acético.

30 Un matraz de fondo redondo fue cargado con acetato de (R)-2-(5-amino-6-metil-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo (150,0 mg, 0,0005468 mol), ácido 1-adamantanoacético (127 mg, 0,000656 mol), N,N,N',N'-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio hexafluorofosfato (520 mg, 0,00137 mol), N,N-diisopropiletamina (0,238 ml, 0,00137 mol), N,N-dimetilformamida (3 ml, 0,04 mol), cloruro de metileno (10 ml, 0,2 mol) y la reacción se sometió a agitación a 45°C durante 3 días. El solvente fue eliminado bajo presión reducida y el residuo fue purificado por HPLC preparativa en fase reversa para generar el producto en forma de un sólido blanco.

b. (R)-2-Adamantil-N-(2-(1-hidroxiopropan-2-il)-6-metil-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-5-il)acetamida.

35 Un matraz de fondo redondo fue cargado con (R)-2-[5-(2-adamantan-1-il-acetilamino)-6-metil-1-oxo-1H-isoquinolin-2-il]-propil éster de ácido acético (120,00 mg, 0,26633 mmol), carbonato de potasio (110,00 mg, 0,000799 mol), metanol (10 ml, 0,3 mol) y unas pocas gotas de metanol. La mezcla de reacción se sometió a agitación a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla fue filtrada y el solvente fue eliminado bajo presión reducida. El residuo fue extraído con (clorofomo:IPA 3:1) y el solvente fue eliminado bajo presión reducida para generar el producto en forma de un sólido amarillo claro.

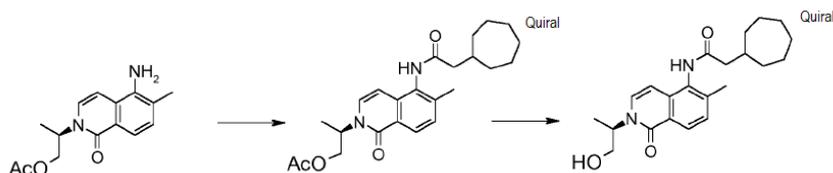
MS m/z = 409,5 (M+H)

40 ¹H RMN (400 MHz; DMSO-d₆) δ □ □ 9,50 (s, 1H), 8,06 (d, J=8,54 Hz, 1H), 7,48 (d, J=7,93 Hz, 1H), 7,37 (d, J=7,93 Hz, 1H), 6,49 (d, J=8,54 Hz, 1H), 5,05-5,00 (m, 1H), 4,94 (bs, 1H), 3,64-3,59 (m, 2H), 2,28 (s, 3H), 2,18 (s, 2H), 1,97 (m, 3H), 1,71-1,61 (m, 12H), 1,27 (d, J=7,06, 3H).

Procedimiento L

Compuesto 32 (no de la invención)

2-Cicloheptil-N-[2-((R)-2-hidroxi-1-metil-etil)-6-metil-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-acetamida



a. (R)-2-(5-(2-Cicloheptilacetamido)-6-metil-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo acetato

5 Un matraz de fondo redondo fue cargado con acetato de (R)-2-(5-amino-6-metil-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo (150,00 mg, 0,054682 mmol), N,N,N',N'-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio hexafluorofosfato (520,00 mg, 0,00137 mol), N,N-diisopropiletilamina (0,238 ml, 0,00137 mol), N,N-dimetilformamida (3 ml, 0,04 mol), cloruro de metileno (10 ml, 0,2 mol). La mezcla de reacción fue agitada a 45°C durante 3 días. Se agregó agua y se extrajo con acetato de etilo. La capa de acetato de etilo fue separada y el solvente fue eliminado bajo presión reducida. El residuo se sometió a purificación por cromatografía instantánea para generar el producto en forma de un sólido blanco.

b. (R)-2-Cicloheptil-N-(2-(1-hidroxiopropan-2-il)-6-metil-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-5-il)acetamida

15 Un matraz de fondo redondo fue cargado con (R)-2-(5-(2-cicloheptilacetamido)-6-metil-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo acetato (180,0 mg, 0,0004363 mol), carbonato de potasio (180 mg, 0,0013 mol), metanol (15 ml, 0,37 mol) y unas pocas gotas de agua. La mezcla de reacción se sometió a agitación a temperatura ambiente durante 1 hora. El solvente fue eliminado bajo presión reducida y se agregó agua al residuo y se extrajo con (cloroformo:IPA,3:1) y el solvente fue eliminado bajo presión reducida y el residuo fue purificado por HPLC preparativa en fase reversa para generar el producto en forma de un sólido blanco.

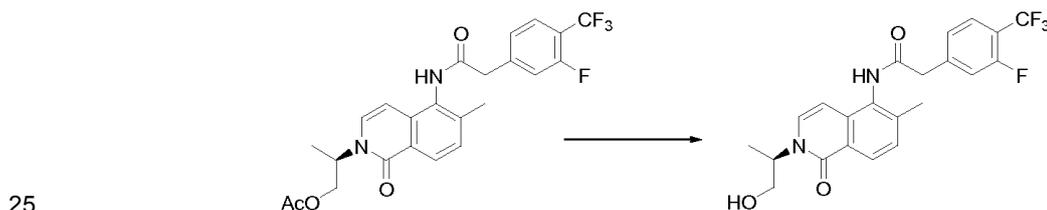
MS m/z = 371,3 (M+H)

20 ¹H RMN (400 MHz; DMSO-d₆) δ □ □ 9,57 (s, 1H), 8,06 (d, J=8,33 Hz, 1H), 7,47 (d, J=7,95 Hz, 1H), 7,37 (d, J=8,71 Hz, 1H), 6,44 (d, J=7,96 Hz, 1H), 5,08-5,05 (m, 1H), 4,93 (t, J=5,43 Hz, 1H), 3,67-3,55 (m, 2H), 2,33 (d, J=7,42 Hz, 2H), 2,26 (s, 3H), 2,05 (m, 1H), 1,81-1,76 (m, 2H), 1,66-1,41 (m, 8H), 1,34-1,31 (m, 2H), 1,27 (d, J=6,97, 3H).

Procedimiento M

Compuesto 33

(S)-2-(3-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)-N-(2-(1-hidroxiopropan-2-il)-6-metil-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-5-il)acetamida



25 Un matraz de fondo redondo fue cargado con acetato de (S)-2-(5-(2-(3-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)-acetamido)-6-metil-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo (200,00 mg, 0,41803 mmol), carbonato de potasio (173 mg, 0,00125 mol), metanol (15 ml, 0,37 mol) y unas pocas gotas de agua. La reacción se sometió a agitación a temperatura ambiente durante 1h. La mezcla de reacción fue filtrada y el solvente fue eliminado bajo presión reducida. El residuo fue extraído con IPA:cloroformo, 1:3, se lavó con agua y el solvente fue eliminado bajo presión reducida. El residuo fue purificado por HPLC preparativa en fase reversa para dar el compuesto deseado en forma de un sólido naranja.

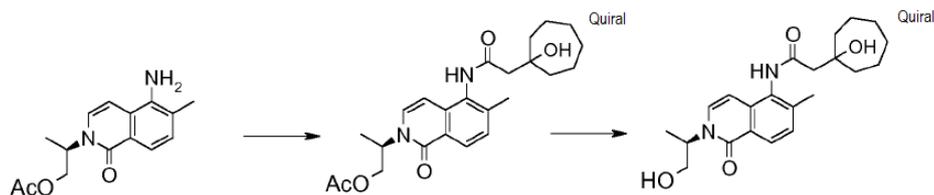
MS m/z = 437,5 (M+H).

35 ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): □ δ □ □ 9,92 (s, 1H), 8,07 (d, J=8,33 Hz, 1H), 7,79 (t, J=7,64 Hz, 1H), 7,53 (d, J=13,20 Hz, 1H), 7,45 (d, J=7,64 Hz, 2H), 7,37 (d, J=8,33 Hz, 1H), 6,44 (d, J=8,33 Hz, 1H), 5,04-5,00 (m, 1H), 4,93 (t, J=5,25 Hz, 1H), 3,92 (s, 2H), 3,67-3,55 (m, 2H), 2,22 (s, 3H), 1,27 (d, J=7,47 Hz, 3H).

Procedimiento N

Compuesto 37 (no de la invención)

2-(1-Hidroxi-cicloheptil)-N-[2-((R)-2-hidroxi-1-metil-etil)-6-metil-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-acetamida



a. acetato de (R)-2-(5-(2-(1-Hidroxicicloheptil)acetamido)-6-metil-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo

- 5 Un matraz de fondo redondo fue cargado con acetato de (R)-2-(5-amino-6-metil-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo (100,00 mg, 0,36454 mmol), ácido 2-(1-hidroxicicloheptil)acético (75,3 mg, 0,437 mmol), N,N,N',N'-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio hexafluorofosfato (346 mg, 0,911 mmol), N,N-diisopropiletilamina (0,159 ml, 0,911 mmol), N,N-dimetilformamida (2 ml, 30 mmol) y cloruro de metileno (8 ml, 100 mmol). La mezcla de reacción se sometió a agitación a temperatura ambiente durante la noche. El solvente fue eliminado bajo presión reducida y el residuo fue llevado a la siguiente etapa sin purificación adicional.

b. (R)-2-(1-Hidroxicicloheptil)-N-(2-(1-hidroxi-propan-2-il)-6-metil-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-5-il)acetamida

- 15 Un matraz de fondo redondo fue cargado con acetato de (R)-2-(5-(2-(1-hidroxicicloheptil)acetamido)-6-metil-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo (100,00 mg, 0,14 mmol), carbonato de potasio (58,0 mg, 0,000420 mol) y metanol (4 ml, 0,1 mol) y la mezcla de reacción fue agitada a temperatura ambiente 1 hora. El solvente fue eliminado bajo presión reducida y el residuo fue purificado por HPLC preparativa en fase reversa para generar el producto.

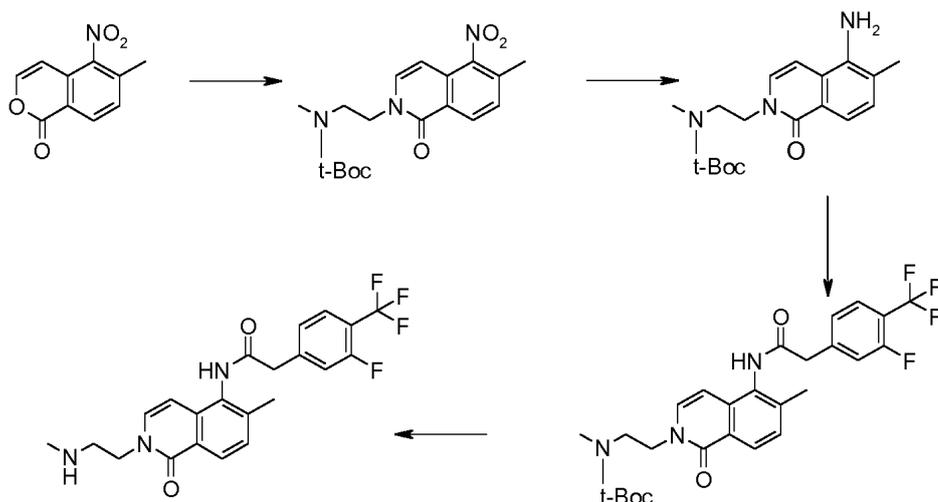
MS $m/z=387,4$ (M+H).

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 8,44 (s, 1H), 7,95 (d, $J=8,3875$ Hz, 1H), 7,06-7,04 (m, 2H), 6,34 (d, $J=7,74$ Hz, 1H), 5,10-5,06 (m, 1H), 3,80-3,67 (m, 2H), 3,47 (s, 1H), 2,59 (s, 2H), 2,21 (s, 3H), 1,87-1,39 (m, 13H), 1,33 (d, $J=7,10$ Hz, 3H)

20 Procedimiento O

Compuesto 38

2-(3-Fluoro-4-trifluorometil-fenil)-N-[6-metil-2-(2-metilamino-etil)-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-acetamida



a. Metil (2-(6-metil-5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)etil)carbamato de tert-butilo

- 25 Un vial para microondas fue cargado con 6-metil-5-nitro-1H-isocromen-1-ona (270 mg, 0,0012 mol), 2-aminoetilmetilcarbamato de tert-butilo (400 mg, 0,002 mol), trietilamina (0,6 ml, 0,005 mol) y metanol (5 ml, 0,1 mol) y la reacción se calentó a 100°C durante 1,5 horas. Los solventes fueron eliminados bajo presión reducida y el residuo se sometió a purificación por cromatografía instantánea para generar el producto deseado en forma de un aceite marrón.

MS m/z=362,0 (M+H)⁺.

b. Metil (2-(5-amino-6-metil-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)etil)carbamato de tert-butilo

5 Un matraz de fondo redondo fue cargado con metil(2-(6-metil-5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)etil)carbamato de tert-butilo (110 mg, 0,00031 mol) y etanol (5 ml, 0,08 mol), y la solución se calentó a 85°C. Se agregó cloruro de amonio (300 mg, 0,006 mol) en agua (2 ml, 0,09 mol) seguido por hierro (200 mg, 0,003 mol) en dos porciones. La reacción fue agitada durante 1 hora y vertida sobre diclorometano (200 ml) y extraída. El solvente fue eliminado bajo presión reducida y el residuo se sometió a purificación por cromatografía instantánea. Para generar el producto deseado en forma de un aceite amarillo.

MS m/z=332,2 (M+H)⁺.

10 c. 2-(5-(2-(3-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)acetamido)-6-metil-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)etil(metil)carbamato de tert-butilo

15 Un vial de reacción fue cargado con 2-(5-amino-6-metil-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)etil(metil)carbamato de tert-butilo (150 mg, 0,00041 mol), ácido 2-(3-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)acético (200 mg, 0,0009 mol), N,N,N',N'-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio hexafluorofosfato (700 mg, 0,002 mol), N,N-diisopropiletilamina (0,3 ml, 0,002 mol), N,N-dimetilformamida (4 ml, 0,05 mol) y la reacción se sometió a agitación a 45°C durante la noche. La reacción fue detenida entonces con agua, extraída con acetato de etilo caliente, y el solvente fue eliminado bajo presión reducida. El residuo se sometió a purificación por cromatografía instantánea y luego por HPLC preparativa en fase reversa para generar el producto en forma de un sólido blancuzco.

MS m/z=536,3 (M+H)⁺.

20 ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 8,13 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,63 (t, J = 7,8 Hz, 1H), 7,37-7,35 (m, 3H), 7,14 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 6,46 (d, J = 7,4 Hz, 1H), 4,07-4,02 (m, 2H), 3,86 (s, 2H), 3,62-3,57 (m, 2H), 2,23 (s, 3H), 1,96 (s, 3H), 0,98 (s, 9H).

d. 2-(3-Fluoro-4-(trifluorometil)fenil)-N-(6-metil-2-(2-(metilamino)etil)-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-5-il)acetamida

25 Se disolvió 2-(5-(2-(3-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)acetamido)-6-metil-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)etil(metil)carbamato de tert-butilo (79 mg, 0,00015 mol) en metanol (3 ml, 0,07 mol), y se agregó ácido clorhídrico 3N (1 ml). La mezcla se sometió a agitación a temperatura ambiente durante la noche. Se agregaron 2 ml adicionales de ácido clorhídrico 3N y 3 ml ácido clorhídrico concentrado y la mezcla se sometió a agitación a temperatura ambiente durante la noche. Los volátiles fueron eliminados bajo presión reducida y el residuo se sometió a purificación por cromatografía instantánea y luego por HPLC preparativa en fase reversa para generar el producto deseado en forma de un sólido blanco.

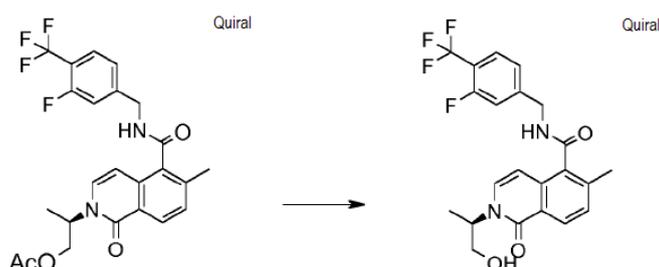
MS m/z=436,1(M+H)⁺.

¹H RMN (400 MHz CD₃OD) δ 8,21 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,72 (t, J = 7,9 Hz, 1H), 7,47-7,44 (m, 3H), 7,36 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 6,57 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 4,16 (t, J = 6,5 Hz, 2H), 3,96 (s, 2H), 2,94 (t, J = 6,5 Hz, 2H), 2,42 (s, 3H), 2,32 (s, 3H).

Procedimiento P

35 Compuesto 40

Ácido 2-((R)-2-Hidroxi-1-metil-etil)-6-metil-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolina-5-carboxílico de 3-fluoro-4-trifluorometil-bencilamida



40 a. (R)-N-(3-Fluoro-4-(trifluorometil)bencil)-2-(1-hidroxiopropan-2-il)-6-metil-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolina-5-carboxamida

Un matraz de fondo redondo fue cargado con acetato de (R)-2-(5-(3-fluoro-4-(trifluorometil)bencil-carbamoil)-6-metil-

1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo (0,47 g, 0,00093 mol), carbonato de potasio (0,22 g, 0,0016 mol) y metanol (100 ml, 2 mol). La reacción se sometió a agitación a temperatura ambiente durante 1 hora. El solvente fue eliminado bajo presión reducida y el residuo fue purificado por HPLC en fase reversa para generar el producto deseado en forma de un sólido blancuzco.

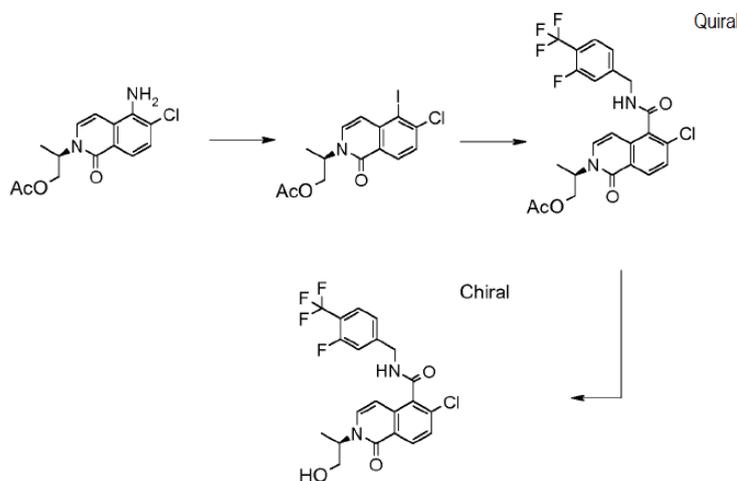
5 MS m/z=437,3 (M+H)⁺.

¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 8,29 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,74 (t, J = 7,5 Hz, 1H), 7,51-7,42 (m, 4H), 6,55 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 5,21-5,16 (m, 1H), 4,72 (s, 2H), 3,86-3,76 (m, 2H), 2,46 (s, 3H), 1,42 (d, J = 7,0 Hz, 3H).

Procedimiento Q

Compuesto 41 (no de la invención)

10 Ácido 6-Cloro-2-((R)-2-hidroxi-1-metil-etil)-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolina-5-carboxílico de 3-fluoro-4-trifluorometil-bencilamida



a. Acetato de (R)-2-(6-Cloro-5-yodo-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo

15 A una solución de nitrito de sodio (1 g, 0,02 mol), hexametildisilano (3 g, 0,02 mol), yodo (5 g, 0,02 mol) y benciltrietildoruro de amonio (0,3 g, 0,001 mol) en tetracloruro de carbono (100 ml, 1 mol) se agregó una solución de acetato de (R)-2-(5-amino-6-cloro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo (2,3 g, 0,0070 mol) en cloruro de metileno (3 ml, 0,05 mol) a 0°C. La mezcla se sometió a agitación a la misma temperatura durante 40 minutos y luego se calentó hasta temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se sometió a purificación por cromatografía instantánea para generar el producto deseado en forma de un aceite marrón.

20 MS m/z=406,0(M+H)⁺.

b. Acetato de (R)-2-(6-Cloro-5-(3-fluoro-4-(trifluorometil)bencilcarbamoyl)-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo

25 Un vial de procesamiento de 5 ml fue cargado con acetato de (R)-2-(6-cloro-5-yodo-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo (200 mg, 0,0005 mol) 3-fluoro-4-trifluorometil-bencilamina (200 mg, 0,0009 mol), hexacarbonilo molibdeno (100 mg, 0,0005 mol), acetato de paladio (10 mg, 0,00005 mol), 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (300 mg, 0,002 mol) y 1,4-dioxano (3 ml, 0,04 mol). El recipiente fue sellado bajo aire y expuesto a irradiación de microondas a 110°C durante 15 minutos, enfriado hasta temperatura ambiente y concentrado. El residuo fue purificado por cromatografía instantánea para generar el producto deseado en forma de un aceite claro.

MS m/z=499,5 (M+H)⁺.

30 ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃, δ 8,38 (d, J = 8,6 Hz, 1H), 7,63 (t, J = 7,8 Hz, 1H), 7,44 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 7,33-7,30 (m, 2H), 7,20 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 6,51 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 6,50-6,36 (m, 1H), 5,43-5,38 (m, 1H), 4,78 (d, J = 6,3 Hz, 2H), 4,32-4,30 (m, 2H), 2,01 (s, 3H), 1,45 (d, J = 7,2 Hz, 3H).

c. (R)-6-Cloro-N-(3-fluoro-4-(trifluorometil)bencil)-2-(1-hidroxiopropan-2-il)-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolina-5-carboxamida

35 Un matraz de fondo redondo fue cargado con (R)-2-(6-cloro-5-(3-fluoro-4-(trifluorometil)bencilcarbamoyl)-1-

oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo acetato (120 mg, 0,00022 mol), carbonato de potasio (100 mg, 0,0007 mol) y metanol (7 ml, 0,2 mol). La reacción se sometió a agitación a temperatura ambiente durante 1 hora. El solvente fue eliminado bajo presión reducida y el residuo fue purificado por HPLC preparativa en fase reversa para generar el producto deseado en forma de un sólido blanco.

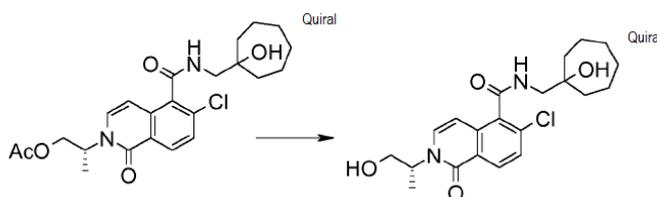
5 MS m/z=457,2 (M+H)⁺.

¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 8,38 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 7,73 (t, J = 8,0 Hz, 1H), 7,59 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 7,48-7,44 (m, 2H), 6,55 (d, J = 7,7 Hz, 1H), 5,21-5,16 (m, 1H), 4,74 (s, 2H), 3,86-3,77 (m, 2H), 1,42 (d, J = 7,0 Hz, 3H).

Procedimiento R

Compuesto 47 (no de la invención)

10 Ácido 6-Cloro-2-((R)-2-hidroxi-1-metil-etil)-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolina-5-carboxílico de (1-hidroxi-cicloheptilmetil)-amida



a. (R)-6-Cloro-N-((1-hidroxicicloheptil)metil)-2-(1-hidroxiopropan-2-il)-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolina-5-carboxamida

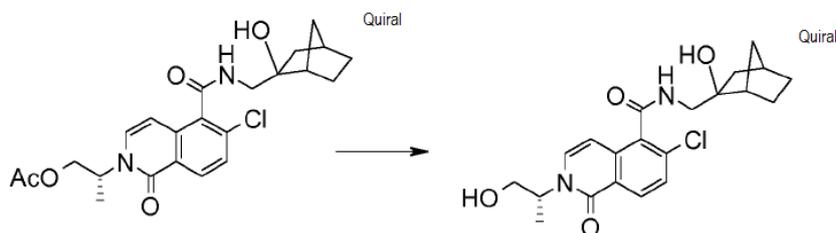
15 Una mezcla de acetato de (R)-2-(6-Cloro-5-((1-hidroxicicloheptil)metilcarbamoil)-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo (620 mg, 0,0012 mol) y carbonato de potasio (300 mg, 0,002 mol) fue agitada en metanol (50 ml, 1 mol) a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla fue concentrada, y el residuo fue purificado por HPLC preparativa en fase reversa y luego por cromatografía instantánea para generar el producto deseado en forma de un sólido blanco.

MS m/z=387,5 (M+H)⁺.

20 ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 8,36 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 7,44 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 7,26 (d, J = 7,7 Hz, 1H), 6,61 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 6,33 (br, 1H), 5,18-5,12 (m, 1H), 3,92 (dd, J = 3,8, 11,7 Hz, 1H), 3,84 (dd, J = 4,6, 11,4 Hz, 1H), 3,55 (d, J = 6,0 Hz, 2H), 2,09-1,49 (m, 12H), 1,45 (d, J = 7,2 Hz, 3H).

Procedimiento S

Compuesto 53 (no de la invención)



25 Ácido 6-Cloro-2-((R)-2-hidroxi-1-metil-etil)-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolina-5-carboxílico de (2-hidroxi-biciclo [2.2.1] hept-2-ilmetil)-amida

a. 6-Cloro-N-((2-hidroxibiciclo[2.2.1]heptan-2-il)metil)-2-((R)-1-hidroxiopropan-2-il)-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolina-5-carboxamida

30 Una mezcla de acetato de (2R)-2-(6-cloro-5-((2-hidroxibiciclo[2.2.1]heptan-2-il)metilcarbamoil)-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo (31 mg, 0,000042 mol) y carbonato de potasio (23 mg, 0,00017 mol) fue agitada en metanol (3 ml, 0,07 mol) a temperatura ambiente durante 1 hora y concentrada. El residuo fue purificado por HPLC preparativa en fase reversa y luego por cromatografía instantánea para generar un sólido blanco.

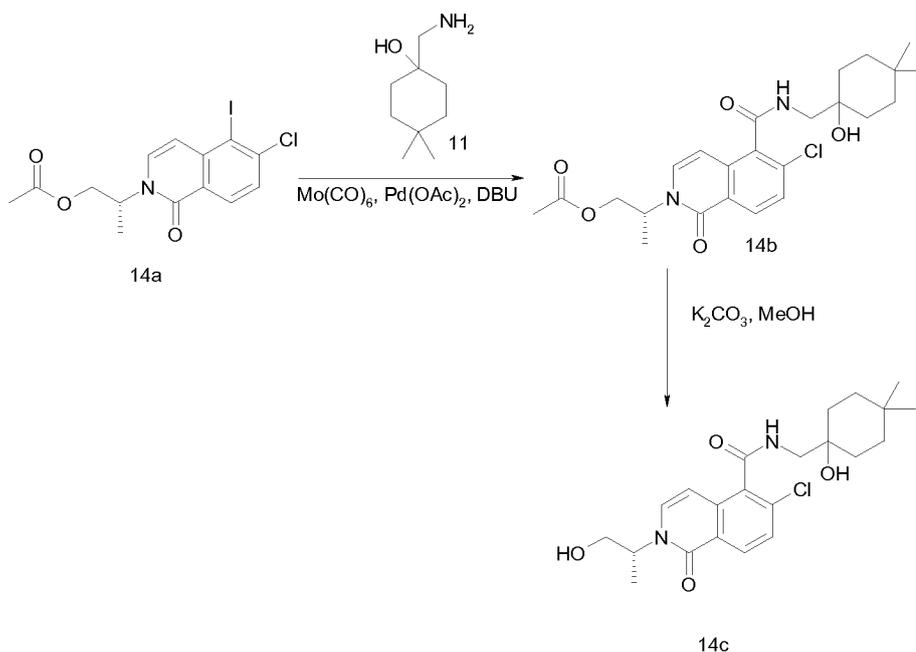
MS m/z=405,3 (M+H)⁺.

^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,36 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H), 7,62-7,57 (m, 2H), 6,69 (d, $J = 7,7$ Hz, 1H), 5,21-5,16 (m, 1H), 3,86-3,77 (m, 2H), 3,54 (dd, $J = 16,9, 25,9$ Hz, 2H), 2,33-2,25 (m, 2H), 2,07-2,04 (m, 1H), 1,93-1,91 (m, 1H), 1,84-1,60 (m, 2H), 1,43-1,39 (m, 6H), 1,18-1,15 (m, 2H).

Procedimiento T

5 Compuesto 54 (no de la invención)

(R)-6-cloro-N-((1-hidroxi-4,4-dimetilciclohexil)metil)-2-(1-hidroxiopropan-2-il)-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolina-5-carboxamida



10 a. (R)-6-Cloro-N-((1-hidroxi-4,4-dimetilciclohexil)metil)-2-(1-hidroxiopropan-2-il)-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolina-5-carboxamida (14b)

Este compuesto fue sintetizado siguiendo el mismo procedimiento de síntesis usado para el acetato de (R)-2-(6-cloro-5-((4,4-difluorociclohexil)metil)carbamoyl)-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo (18b, véase Compuesto 61).

MS $m/z=463,2$, (M+H).

15 ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 8,20 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H), 7,31 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H), 7,18 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H), 6,70 (br, 1H), 6,59 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H), 5,48-5,40 (m, 1H), 4,31-4,28 (m, 2H), 3,59-3,57 (m, 2H), 2,01 (s, 3H), 1,67-1,20 (m, 14H), 0,85 (d, $J = 7,2$ Hz, 3H).

20 b. (R)-6-cloro-N-((1-hidroxi-4,4-dimetilciclohexil)metil)-2-(1-hidroxiopropan-2-il)-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolina-5-carboxamida (14c)

Este compuesto fue sintetizado siguiendo el mismo procedimiento de síntesis usado para (R)-6-cloro-N-((4,4-difluorociclohexil)metil)-2-(1-hidroxiopropan-2-il)-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolina-5-carboxamida (18c, véase Compuesto 61).

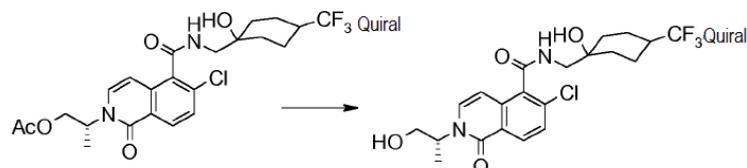
MS $m/z=421,4$, (M+H).

25 ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,24 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H), 7,46 (d, $J = 7,5$ Hz, 2H), 6,55 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H), 5,09-5,04 (m, 1H), 3,75-3,65 (m, 2H), 3,38 (s, 2H), 1,64-1,57 (m, 2H), 1,50-1,44 (m, 4H), 1,30 (d, $J = 7,0$ Hz, 3H), 1,19-1,14 (m, 2H), 0,85 (d, $J = 7,2$ Hz, 6H).

Procedimiento U

Compuesto 56 (no de la invención)

Ácido 6-Cloro-2-((R)-2-hidroxi-1-metil-etil)-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolina-5-carboxílico de (1-hidroxi-4-trifluorometil-ciclohexilmetil)-amida



a. (R)-6-Cloro-N-((1-hidroxi-4-(trifluorometil)ciclohexil)metil)-2-(1-hidroxiopropan-2-il)-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolina-5-carboxamida

5 Una mezcla de acetato de (R)-2-(6-cloro-5-((1-hidroxi-4-(trifluorometil)ciclohexil)metil)carbamoyl)-1-oxoisquinolin-2(1H)-il)propilo (76 mg, 0,00014 mol) y carbonato de potasio (20 mg, 0,0001 mol) fue agitada en metanol (6 ml, 0,1 mol) a temperatura ambiente) a temperatura ambiente durante 1 hora y concentrada. El residuo fue purificado por HPLC preparativa en fase reversa para generar un sólido blanco.

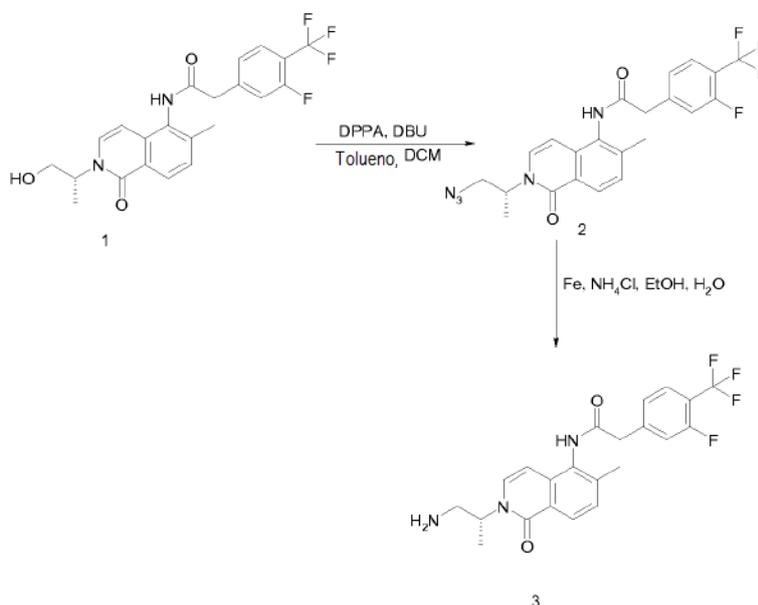
MS $m/z = 461,2$ (M+H)⁺.

10 ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8,62 (t, J = 5,3 Hz, 1H), 8,22 (d, J = 9,1 Hz, 1H), 7,60 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 7,54 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 6,43 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 5,04-5,02 (m, 1H), 4,96 (t, J = 5,3 Hz, 1H), 4,41 (s, 1H), 3,66-3,58 (m, 2H), 3,30 (d, J = 6,1 Hz, 2H), 2,32 (br, 1H), 1,70-1,60 (m, 6H), 1,48-1,44 (m, 2H), 1,27 (d, J = 6,9 Hz, 3H).

Procedimiento V

Compuesto 58

(R)-N-(2-(1-aminopropan-2-il)-6-metil-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-5-il)-2-(3-fluoro-4-(trifluorometil)fenil) acetamida



15

a. (R)-N-(2-(1-Azidopropan-2-il)-6-metil-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-5-il)-2-(3-fluoro-4-(trifluorometil)fenil) acetamida (2)

20 Una solución de (R)-2-(3-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)-N-(2-(1-hidroxiopropan-2-il)-6-metil-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-5-il)acetamida (0,5 g, 0,001 mol) en cloruro de metileno (20 ml, 0,3 mol) y tolueno (10 ml, 0,09 mol) fue enfriada hasta 0°C y tratada con azida difenilfosfónica (600 mg, 0,002 mol), seguida por 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (0,3 g, 0,002 mol) bajo nitrógeno. La mezcla se sometió a agitación a 0°C durante 2 h y luego se dejó calentar hasta temperatura ambiente y se sometió a agitación durante la noche. La mezcla fue concentrada y el residuo fue tratado con agua (50 ml) y acetato de etilo (100 ml). La capa orgánica fue separada, lavada con salmuera, secada y evaporada. El residuo fue purificado a través de cromatografía instantánea para generar el producto deseado en forma de un aceite claro (0,48 g, rendimiento 90%).

25

MS $m/z = 462,3$. (M+H)

^1H RMN (400 MHz DMSO- d_6) δ 9,94 (s, 1H), 8,08 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 7,80 (t, J = 8,0 Hz, 1H), 7,55-7,49 (m, 2H), 7,45 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,40 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 6,50 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 5,20-5,15 (m, 1H), 3,92 (s, 2H), 3,77-3,66 (m, 2H), 2,23 (s, 3H), 1,34 (d, J = 7,0 Hz, 3H).

5 b. (R)-N-(2-(1-Aminopropan-2-il)-6-metil-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-5-il)-2-(3-fluoro-4-(trifluorometil)fenil) acetamida (3)

Una solución de (R)-N-(2-(1-azidopropan-2-il)-6-metil-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-5-il)-2-(3-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)acetamida (0,6 g, 0,001 mol) en etanol (50 ml, 0,8 mol) se calentó a 85°C. Se agregó una solución de cloruro de amonio (0,6 g, 0,01 mol) en agua (15 ml, 0,83 mol) seguida por polvo de hierro (0,6 g, 0,01 mol). La mezcla se sometió a agitación a la misma temperatura durante 3 horas y se vertió sobre diclorometano (200 ml) y se extrajo. El residuo fue purificado por HPLC en fase reversa para generar el producto deseado en forma de un sólido blanco (232 mg, rendimiento 50%).

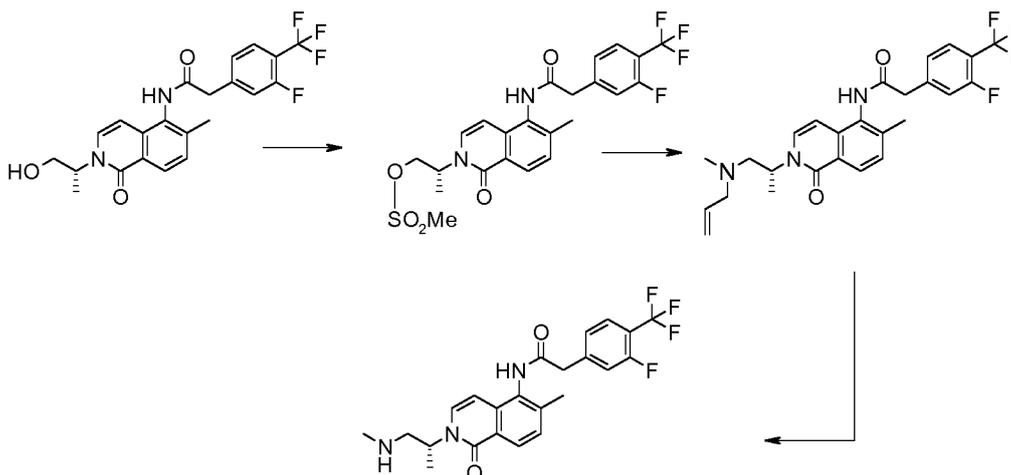
MS m/z =437,2. (M+H).

15 ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9,92 (s, 1H), 8,07 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,79 (t, J = 8,4 Hz, 1H), 7,53 (d, J = 11,9 Hz, 1H), 7,46-7,42 (m, 2H), 7,37 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,46 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 4,93-4,90 (m, 1H), 3,92 (s, 2H), 2,80 (d, J = 7,1 Hz, 2H), 2,22 (s, 3H), 1,27 (d, J = 6,92, 3H).

Procedimiento W

Compuesto 59

2-(3-Fluoro-4-trifluorometil-fenil)-N-[6-metil-2-((R)-1-metil-2-metilamino-etil)-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-acetamida



20 a. Metanosulfonato de (R)-2-(5-(2-(3-Fluoro-4-(trifluorometil)fenil)acetamido)-6-metil-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo

Se agregó trietilamina (0,2 g, 0,002 mol) a una solución de (R)-2-(3-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)-N-(2-(1-hidroxipropan-2-il)-6-metil-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-5-il)acetamida (0,5 g, 0,001 mol), cloruro de metanosulfonilo (0,16 g, 0,0014 mol) y 4-dimetilaminopiridina (10 mg, 0,0001 mol) en cloruro de metileno (10 ml, 0,2 mol). La mezcla se sometió a agitación a temperatura ambiente durante la noche. Los volátiles fueron eliminados bajo presión reducida y la mezcla fue purificada a través de cromatografía instantánea para generar el producto deseado en forma de un sólido blanco.

25 b.(R)-N-(2-(1-(Alil(metil)amino)propan-2-il)-6-metil-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-5-il)-2-(3-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)acetamida

30 Una mezcla de metanosulfonato de (R)-2-(5-(2-(3-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)acetamido)-6-metil-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo (100 mg, 0,0002 mol), N-metilprop-2-en-1-amina (30 mg, 0,4 mmol), trietilamina (200 mg, 0,002 mol) y cloruro de metileno (6 ml, 0,09 mol) se sometió a agitación a temperatura ambiente durante la noche. Los volátiles fueron eliminados bajo presión reducida y la mezcla fue purificada por HPLC preparativa en fase reversa para generar el producto deseado en forma de un sólido blanco.

35 MS m/z =490,0 (M+H)

^1H RMN (400 MHz DMSO- d_6) δ 9,91 (s, 1H), 8,07 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 7,80 (t, J = 8,0 Hz, 1H), 7,53 (d, J = 12 Hz, 1H), 7,46-7,36 (m, 3H), 6,47 (d, J = 7,7 Hz, 1H), 5,80-5,60 (m, 1H), 5,14-5,10 (m, 1H), 5,07-5,04 (m, 2H), 3,93 (s, 2H), 2,99-2,76 (m, 3H), 2,44-2,39 (m, 1H), 2,22 (s, 3H), 2,11 (s, 3H), 1,26 (d, J = 6,8 Hz, 3H).

c. (R)-2-(3-Fluoro-4-(trifluorometil)fenil)-N-(6-metil-2-(1-(metilamino)propan-2-il)-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-5-il)acetamida

Una solución de (R)-N-(2-(1-(alil(metil)amino)propan-2-il)-6-metil-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-5-il)-2-(3-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)acetamida (56 mg, 0,00011 mol) en cloruro de metileno (2,5 ml, 0,039 mol) se agregó a ácido 1,3-dimetilbarbitúrico (60 mg, 0,0004 mol) y tetrakis(trifenilfosfina)paladio(0) (1 mg, 0,000001 mol) bajo argón. La mezcla se sometió a agitación a temperatura ambiente durante 4 horas, purificada a través de cromatografía instantánea y luego por HPLC preparativa en fase reversa para generar el producto deseado en forma de un sólido blanco.

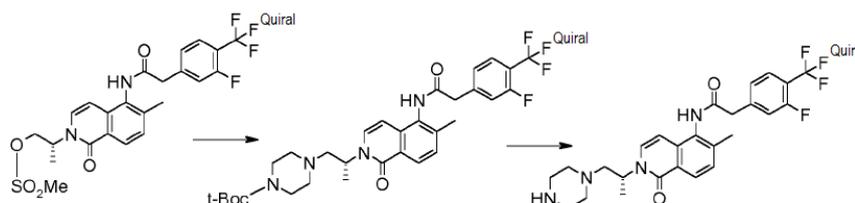
MS m/z=450,4 (M+H)

^1H RMN (400 MHz DMSO-d₆) δ 9,92 (s, 1H), 8,07 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 7,80 (t, J = 8,1 Hz, 1H), 7,53 (d, J = 12,3 Hz, 1H), 7,46-7,43 (m, 2H), 7,37 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 6,46 (d, J = 7,7 Hz, 1H), 5,15-5,12 (m, 1H), 3,92 (s, 2H), 2,92-2,76 (m, 2H), 2,27 (s, 3H), 2,23 (s, 3H), 1,29 (d, J = 7,0 Hz, 3H).

Procedimiento X

Compuesto 60 (no de la invención)

2-(3-Fluoro-4-trifluorometil-fenil)-N-[6-metil-2-((R)-1-metil-2-piperazin-1-il-etil)-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-5-il]-acetamida



a. 4-(2-(5-(2-(3-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)acetamido)-6-metil-1-oxoisoquinolin-2(H)-il)propil)piperazina-1-carboxilato de (R)-tert-butilo

Una mezcla de metanosulfonato de (R)-2-(5-(2-(3-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)acetamido)-6-metil-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo (100 mg, 0,0002 mol), 1-piperazinacarboxilato de tert-butilo (100 mg, 0,0006 mol), trietilamina (200 mg, 0,002 mol) y cloruro de metileno (6 ml, 0,09 mol) se sometió a agitación a temperatura ambiente durante la noche. Los solventes fueron eliminados bajo presión reducida y el residuo se sometió a purificación por cromatografía instantánea para generar el producto deseado en forma de un aceite amarillo claro (100 mg, 60%).

MS m/z=605,7 (M+H)

b. (R)-2-(3-Fluoro-4-(trifluorometil)fenil)-N-(6-metil-1-oxo-2-(1-(piperazin-1-il)propan-2-il)-1,2-dihidroisoquinolin-5-il)acetamida

A una solución de 4-(2-(5-(2-(3-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)acetamido)-6-metil-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propil)piperazina-1-carboxilato de (R)-tert-butilo (100 mg, 0,0002 mol) en metanol (6 ml, 0,1 mol) se agregó cloruro de hidrógeno 4M en 1,4-dioxano (6 ml, 0,02 mol) a 0°C. La mezcla se sometió a agitación a temperatura ambiente durante la noche. Los volátiles fueron eliminados bajo presión reducida y el residuo fue purificado por HPLC preparativa en fase reversa para generar el producto deseado en forma de un sólido blanco.

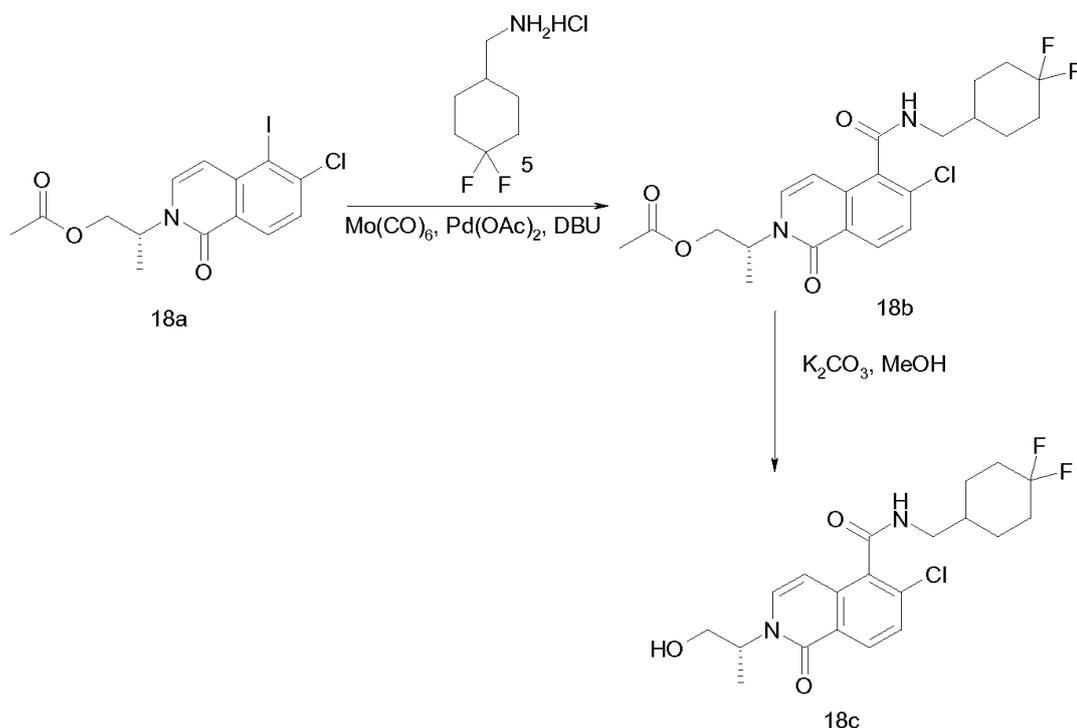
MS m/z=505,2 (M+H)

^1H RMN (400 MHz DMSO-d₆) δ 9,91 (s, 1H), 8,07 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 7,80 (t, J = 7,9 Hz, 1H), 7,54 (d, J = 12,6 Hz, 1H), 7,45 (d, J = 7,8 Hz, 2H), 7,37 (d, J = 8, Hz, 1H), 6,46 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 5,26-5,20 (m, 1H), 3,93 (s, 2H), 2,72-2,67 (m, 1H), 2,52-2,32 (m, 8H), 2,22 (br, 5H), 1,27 (d, J = 6,8 Hz, 3H).

Procedimiento Y

Compuesto 61 (no de la invención)

(R)-6-Cloro-N-((4,4-difluorociclohexil)metil)-2-(1-hidroxiopropan-2-il)-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolina-5-carboxamida



a. Acetato de (R)-2-(6-Cloro-5-((4,4-difluorociclohexil)metilcarbamoil)-1-oxoisoquinolin-2(1H-il)propilo (18b)

5 Un vial de procesamiento de 5 ml fue cargado con acetato de (R)-2-(6-cloro-5-yodo-1-oxoisoquinolin-2(1H-il)propilo (18a) (400 mg, 0,0009 mol), (4,4-difluorociclohexil)metanamina clorhidrato (150 mg, 0,00081 mol), hexacarbonilo molibdeno (500 mg, 0,002 mol), acetato de paladio (15 mg, 0,000067 mol), 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (500 mg, 0,003 mol) y 1,4-dioxano (4 ml, 0,04 mol). El recipiente fue sellado bajo aire y agitado a 110°C durante 1 hora y enfriado hasta temperatura ambiente. La mezcla fue concentrada y purificada por cromatografía instantánea para generar el producto deseado en forma de un aceite amarillo. (143 mg, 37%).

MS m/z=455,4 (M+H)

10 b. (R)-6-Cloro-N-((4,4-difluorociclohexil)metil)-2-(1-hidroxiopropan-2-il)-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolina-5-carboxamida (18c)

15 Se agitaron acetato de (R)-2-(6-Cloro-5-((4,4-difluorociclohexil)metilcarbamoil)-1-oxoisoquinolin-2(1H-il)propilo (140 mg, 0,00029 mol) y carbonato de potasio (140 mg, 0,0010 mol) en metanol (6 ml, 0,1 mol) a temperatura ambiente durante 1 hora, se concentraron, y purificaron por HPLC preparativa en fase reversa para generar el producto deseado en forma de un sólido blanco. (77 mg, 63%).

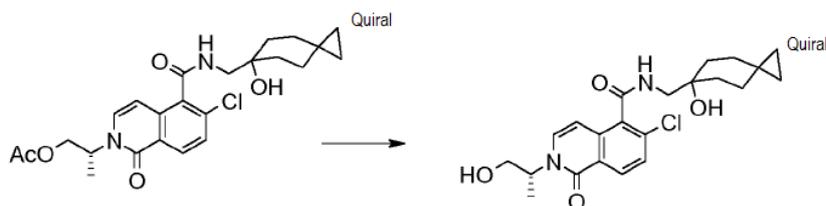
MS m/z=413,1 (M+H).

^1H RMN (400 MHz, DMSO-*d*6) δ 8,76 (t, J = 5,7 Hz, 1H), 8,23 (dd, J = 0,6, 8,6 Hz, 1H), 7,60 (d, J = 7,7 Hz, 1H), 7,55(d, J = 8,7 Hz, 1H), 6,33 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 5,05-5,01 (m, 1H), 4,96 (br, 1H), 3,67-3,58 (m, 2H), 3,23 (t, J = 6,2 Hz, 2H), 2,04-2,02 (m, 2H), 1,86-1,74 (m, 5H), 1,30-1,27 (m, 5H).

20 Procedimiento Z

Compuesto 63 (no de la invención)

6-Cloro-2-((R)-1-hidroxiopropan-2-il)-N-((6-hidroxispiro[2.5]octan-6-il)metil)-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolina-5-carboxamida



Se agitaron acetato de (2R)-2-(6-Cloro-5-((6-hidroxispiro[2.5]octan-6-il)metilcarbamoil)-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo (130 mg, 0,00029 mol) y carbonato de potasio (140 mg, 0,0010 mol) en metanol (6 ml, 0,1 mol) a temperatura ambiente durante 1 hora, se concentraron, y purificaron por HPLC preparativa en fase reversa para generar el producto deseado en forma de un sólido blanco.

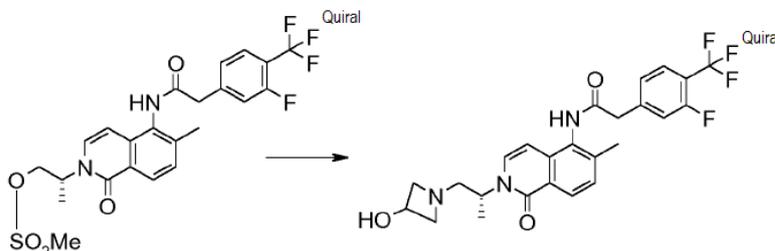
MS $m/z=419,5$ (M+H)

^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8,60 (t, J = 6,12 Hz, 1H), 8,22 (d, J = 8,6 Hz, 1H), 7,59 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 7,54 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 6,44 (d, J = 7,7 Hz, 1H), 5,04-5,01 (m, 1H), 4,98-4,95 (m, 1H), 4,29 (s, 1H), 3,67-3,56 (m, 2H), 3,33 (d, J = 6,12 Hz, 2H), 1,78-1,73 (m, 2H), 1,65-1,50 (m, 4H), 1,28 (d, J = 7,0 Hz, 3H), 0,98-0,90 (m, 2H), 0,26-0,15 (m, 4H).

Procedimiento AA1

Compuesto 64 (no de la invención)

2-(3-Fluoro-4-trifluorometil-fenil)-N-{2-[(R)-2-(3-hidroxi-azetidín-1-il)-1-metil-etil]-6-metil-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il}-acetamida



Una solución de metanosulfonato de (R)-2-(5-(2-(3-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)acetamido)-6-metil-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)propilo (100 mg, 0,2 mmol), 3-hidroxi-azetidina clorhidrato (120 mg, 1,1 mmol), trietilamina (200 mg, 2 mmol) y cloruro de metileno (1 ml, 20 mmol) se sometió a agitación a temperatura ambiente durante la noche. Los volátiles fueron eliminados y el residuo fue purificado por HPLC preparativa en fase reversa para generar el producto deseado en forma de un sólido blanco.

MS $m/z=491,7$ (M+H)

^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9,91 (s, 1H), 8,06 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,80 (t, J = 7,9 Hz, 1H), 7,53 (d, J = 11,9 Hz, 1H), 7,46-7,36 (m, 3H), 6,44 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 5,20 (d, J = 6,5 Hz, 1H), 4,94 (br, 1H), 4,05-4,01 (m, 1H), 3,92 (s, 2H), 3,45-3,43 (m, 1H), 2,81-2,48 (m, 4H), 2,22 (s, 3H), 1,25 (d, J = 6,9 Hz, 3H).

Ejemplo 1

El receptor P2X₇ es expresado fuertemente en líneas celulares derivadas de macrófagos, incluyendo, pero no limitándose a, J774 (línea de macrófago de ratón, American Type Culture Collection (ATCC), Rockville, MD, ATCC TIB-67), P388 (línea celular de ratón, ATCC CCL-46), P815 (línea derivada de células de mastocitos de ratón, ATCC TIB-64), THP-1 (línea celular derivada de monocitos humanos, con la referencia ATCC TIB202) y U937 (línea celular humana derivada de linfoma histiocítico inducible a la diferenciación de monocitos, ATCC CRL-1593.2) y en cultivos de macrófagos aislados. Los macrófagos animales humanos o no humanos son aislados utilizando el procedimiento que se apunta a continuación.

El receptor P2Z/P2X₇ puede ser caracterizado midiendo la apertura de canales, por ejemplo de flujo de iones, y/o estableciendo la formación de poros, incluyendo el consumo de colorante de monitorización o lisis celular en células

que expresan de manera natural este receptor. Compuestos tales como ATP, 2' y 3'-(O)-(4-benzoil benzoil) ATP (BzATP) efectúan la formación de poros en la membrana del plasma de estas células, particularmente en concentraciones de iones divalentes extracelulares bajas (Buisman et al, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:7988 (1988); Zamboni et al, Cell. Immunol 156:458 (1994); Hickman et al Blood 84:2452 (1994)). Colorantes de tamaño molecular grande, incluyendo el colorante de propidio YO-PRO-1, pueden verse entrando a las líneas celulares derivadas de macrófagos durante las grabaciones celulares (Hickman et al, Blood 84:2452 (1994); Wiley et al, Br J Pharmacol 112:946 (1994); Steinberg et al, J Biol Chem 262:8884 (1987)). El bromuro de etidio (una sonda de ADN fluorescente) también puede ser monitorizado, cuando se observa un incremento en la fluorescencia del bromuro de etidio enlazado al ADN intracelular. La expresión de rP2X₇ de rata o humano recombinante en células, incluyendo células HEK293, y en oocitos de *Xenopus* demuestra el influjo y la formación de poros por grabaciones de células enteras y fluorescencia de YO-PRO-1 (Suprenant et al, Science 272:735 (1996); Rassendren et al, J Biol Chem 272:5482 (1997)).

Los compuestos de la invención pueden ser probados en cuanto a su actividad antagonista en el receptor P2X₇. Las pruebas que se llevan a cabo incluyen y se seleccionan de: (i) experimentos electrofisiológicos; (ii) fluorescencia de YO-PRO-1; (iii) fluorescencia de bromuro de etidio; y (iv) liberación de IL-1 β a partir de macrófagos estimulados, incluyendo como se describe más abajo. Los compuestos pueden ser probados *in vivo* en modelos animales incluyendo modelos de inflamación (por ejemplo, modelo de edema de pata, artritis inducida por colágeno, modelo EAE de MS).

Aislamiento de macrófagos humanos

Se preparan cultivos de macrófagos de animales humanos o no humanos derivados de monocitos como lo describe Blanchard et al (Blanchard et al, J Cell Biochem 57:452 (1995); Blanchard et al, J Immunol 147:2579 (1991)). En resumen, los monocitos son aislados a partir de concentrados de leucocitos obtenidos de un voluntario saludable. Los leucocitos son suspendidos en medio RPMI 1460 (Life Technologies, Inc.) con suero al 20% (humano para células humanas), glutamina 2 mM, HEPES 5 mM, y 100 μ g/ml de estreptomycin. Las células se dejan adheridas a matraces de cultivo durante 1-2 horas, después del cual las células no adherentes son eliminadas por lavado. Las células adherentes son cultivadas durante 7-14 días en este medio más interferón- γ (humano para células humanas) (1000 unidades/ml). Los macrófagos son recuperados del matraz de cultivo mediante una pipeta con solución salina regulada con fosfato y sembrados sobre cubreobjetos de vidrio para experimentos fisiológicos u otros llevados a cabo 12-24 horas después.

Ejemplo 2

Experimentos electrofisiológicos

Las grabaciones de células completas se realizaron utilizando el amplificador de parche-pinza EPC9 y los programas de adquisición de pulsos (HEKA, Lambrecht, Alemania). Las grabaciones de células enteras fueron obtenidas a partir de células, por ejemplo células J774A.1 (American Type Culture Collection, Rockville, MD, ATCC TIB-67); se aplicaron agonistas por períodos de 1 a 3 segundos mediante un sistema de administración de tubo en U de flujo rápido [E.M. Fenwick, A. Marty, E. Neher, J. Physiol. (Londres) 331, 577 (1982)]. La solución en pipeta interna es aspartato de cesio o aspartato de potasio 140 mM, NaCl 20 mM, EGTA 10 mM, y Hepes 5 mM; la solución externa normal es NaCl 145 mM, KCl 2 mM, CaCl₂ 2 mM, MgCl₂ 1 mM, Hepes 10 mM y glucosa 12 mM. La solución externa divalente baja es nominalmente libre de magnesio con CaCl₂ 0,3 mM. Las curvas concentración-respuesta se construyen en la solución divalente baja registrando corrientes en respuesta a aplicaciones de 1 s de agonista a intervalos de 8 minutos con solución externa normal presente durante 6 minutos antes de cada aplicación. Este protocolo es necesario para evitar el desarrollo de corrientes de entradas sostenidas.

Los potenciales reversos (E_{rev}) son obtenidos por aplicación de ATP (300 μ M) o BzATP (30 μ M) (controles), o el compuesto que está siendo probado, mientras que la membrana es mantenida a diversos potenciales o por aplicación de rampas de voltaje desde -120 a 30 o 50 mV. Las relaciones de permeabilidad son calculadas a partir de E_{rev} primero calculando α ($= P_{Na}/P_K$ donde P es permeabilidad) para concentraciones interna (i) y externa (o) $[Na]_i = 20$ mM, $[Na]_o = 145$ mM, $[K]_o = 0$ mM, y $[K]_i = 140$ mM desde $\alpha = ((145/\exp(E_{rev}F/RT)) - 20)/140$ (donde F es el Faraday, R es la constante de gases, y T es la temperatura absoluta). Otros valores de P_X/P_{Na} cuando $[X]_o = 145$ mM, $[Na]_i = 20$ mM, $[K]_i = 140$ mM, y $[Na]_o = [K]_o = [X]_i = 0$ mM, se calculan a partir de $P_X/P_{Na} = ((\exp(E_{rev}F/RT)) (20 + 140\alpha))/145$. En orden de tamaño, X es cesio, metilamina, tris(hidroximetil)-aminometano, tetraetilamonio, y N-metil-D-glucamina. La solución interna también contiene EGTA 10 mM y Hepes 5 mM. Las soluciones externas también contienen glucosa 10 mM y concentraciones normales o bajas de cationes divalentes; el pH se mantiene a 7,3 con HCl, histidina, o Hepes según se requiera y la osmolaridad de todas las soluciones es de 295 a 315.

Ejemplo 3

Fluorescencia de YO-PRO1

Se usa el sistema Photonics Imaging (IDEA) para mediciones de fluorescencia microscópicas (Photonics, Planegg, Alemania). Los cubreobjetos son colocados en la platina de un microscopio invertido Zeiss Axiovert 100 o equivalente y observados bajo inmersión en aceite con un objetivo 40X Fluor. Se agrega YO-PRO-1 (10 μ M;

Molecular Probes, Eugeno, OR) al fluido en superfusión durante registros electrofisiológicos de 3 a 6 minutos antes de la conmutación a una solución divalente baja y lavado hasta conmutación de regreso a una solución divalente normal, después de lo cual se enciende la lámpara fluorescente y se examinan las células con un filtro de isotiocianato de fluoresceína. La fluorescencia de YO-PRO1 se mide utilizando longitudes de onda de excitación/emisión de 491/509 nm. Las imágenes se obtienen a intervalos de 5-20 segundos durante su perfusión continua (2 ml/minuto) con YO-PRO1 y concentraciones variables de ATP, BzATP de control o el compuesto que va a ser probado. Para cada experimento, el transcurso de tiempo de la fluorescencia de YO-PRO1 se obtiene para 10-20 células individuales y luego se promedia para generar la señal de fluorescencia media. Los resultados se expresan como señal media a 3 minutos para rP2X₇, y la señal a 10 minutos se utiliza para P2X₇ y células de macrófagos humanos. Todos los experimentos se llevan a cabo a temperatura ambiente.

Ejemplo 4

Bromuro de etidio

Los compuestos de la invención son probados en cuanto a actividad antagonista en el receptor P2X₇ monitorizando el bromuro de etidio que entra en células que expresan el receptor P2X₇ en la formación de poros. La prueba se lleva a cabo en placas de microtitulación de fondo plano de 96 pozos, llenando los pozos con 250 µl de solución de prueba que comprenden 200 µl de una suspensión de células que expresan P2X₇ (por ejemplo células THP-1, células J774, etc.) ($2,5 \times 10^6$ células/ml) que contiene bromuro de etidio 10^{-4} M, 25 µl de una solución reguladora alta en potasio que contiene BzATP 10^{-5} M, y 25 µl de una solución reguladora alta en potasio que contiene compuesto de prueba. La placa es cubierta con una lámina plástica e incubada a 37°C durante una hora. La placa es leída entonces en un lector de placas fluorescentes Perkin-Elmer, excitación de 520 nm, emisión de 595 nm, anchuras de rendija: Ex 15 nm, EM 20 nm. Para propósitos de comparación, se utilizan separadamente BzATP (un agonista del receptor P2X₇) y 5-fosfato de piridoxal (un agonista del receptor P2X₇) separadamente en la prueba como controles. A partir de las lecturas obtenidas, se calcula una cifra de pIC₅₀ para cada compuesto de prueba. Esta cifra es el logaritmo negativo de la concentración del compuesto de prueba necesaria para reducir la actividad agonista de BzATP en un 50%.

Ejemplo 5

Liberación de IL-1β

Este ejemplo demuestra la prueba de los compuestos de esta invención en cuanto a su eficacia como inhibidores de la liberación mediada por P2X₇ de IL-1β a partir de macrófagos humanos activada por el péptido amiloide beta de Alzheimer 1-42.

Aislamiento de células

Los monocitos son aislados a partir de células mononucleares de sangre periférica (PBMCs) como sigue. Se dispone sangre entera directamente sobre columnas Histopak 1077-1 (Sigma Biochemicals) y se centrifugan a 800xg durante 15 minutos. La banda de PBMC de células es retirada a un tubo de cultivo fresco de 50 ml y diluida con regulador de lavado 1:1 (solución salina regulada con fosfato, pH 7,4 que contiene EDTA 2 mM y 5 mg/ml de BSA) seguido por centrifugación a 800xg durante 5 minutos. Las células son lavadas entonces por resuspensión secuencial de la pella de células en regulador de lavado y centrifugación a 600xg durante 5 minutos. El proceso de lavado es repetido hasta que el sobrenadante está limpio de plaquetas contaminantes (en general, 5 a 6 lavados). Los monocitos son purificados entonces del PBMC por selección negativa utilizando un kit de aislamiento de monocitos (Miltenyi Biotec, Inc.) que contiene anticuerpos para células no monocíticas, haciendo correr las células sobre una columna magnética para eliminar células enlazadas a anticuerpos, y recolectando el flujo a través del volumen de monocitos. Los monocitos son lavados una vez con regulador de lavado y sembrados a 100.000 células por pozo en 100 µl de RPMI 1640 libre de suero en placas de 96 pozos e incubados durante 1 hora a 37°C en una incubadora de cultivo de tejidos humidificada con CO₂ al 5%/O₂ al 95%. Después de 1 hora, el medio es reemplazado con 100 µl de medio de cultivo completo (RPMI 1640, suero humano tipo AB al 10% (inactivado por calor), HEPES 25 Mm, glutamina de 2 mM, 50 U/ml de penicilina y estreptomina) e incubado durante la noche (16 horas).

Régimen de dosificación

Al día siguiente, el medio de cultivo es reemplazado con 100 µl de medio de cultivo completo fresco en la ausencia o presencia del péptido 1-42 beta amiloide humano (5 µM) y se incubó a 37°C en una incubadora para cultivo de tejidos humidificada con CO₂ al 5%/O₂ al 95% durante 5 horas. El medio es entonces retirado y descartado. Cada pozo es lavado una vez con solución salina regulada de Hanks (HBSS) que contiene CaCl₂ 1 mM seguido por la adición de 80 µl de HBSS/CaCl₂ compuesto inhibidor de la presente invención (solución de reserva 10x en HBSS/CaCl₂ para una concentración final de 23 nM y 206 nM) y se incubó durante 15 minutos en una incubadora para cultivo de tejidos seguido por la adición de 10 µl de HBSS/CaCl₂ o 10 µl de benzil ATP (BzATP; solución de reserva 3 mM de HBSS/CaCl₂ para una concentración final de 300 µM) y se incubó durante 30 minutos adicionales en la incubadora para cultivo de tejidos. Se retira entonces el medio a nuevas placas de 96 pozos para almacenamiento a -70°C hasta que el contenido de IL-1β sea cuantificado por ELISA (de R&D Systems). Las células son lavadas una vez con HBSS/CaCl₂ seguido por lisado de las células con 100 µl de regulador de lisis enfriado con

hielo (Tris 100 mM, pH 7,6, Triton X-100 al 1%, y 1 tableta por 30 ml de inhibidor de proteasa Complete TM de Roche Biochemicals, Inc). Los lisados celulares se almacenan a -70°C hasta que la IL-1 β es cuantificada por ELISA.

Ejemplo 6

Modelos animales *in vivo*

- 5 A. Este ejemplo ilustra la eficacia de los compuestos de esta invención en el tratamiento de esclerosis múltiple.

Tal como se describió aquí, se utiliza un modelo de encefalomiелitis autoinmune experimental (EAE) para mostrar tal eficacia. Se emplean los siguientes procedimientos en este modelo.

Animales

Ratones hembra SJL/J, de 8 semanas de edad, obtenidos de Jackson Laboratories.

10 Antígenos

La proteína proteolípida mielina (PLP 139-151) (HSLGKWLGHDPKF) (Cat # H-2478) se obtiene de BACHEM, Bioscience, Inc., 3700 Horizon Dr., King of Prussia, Pa. 19406, 1-610-239-0300 (teléfono), 1-610-239-0800 (fax).

El adyuvante de Freund Adjuvant H37 Ra [1 mg/ml Mycobacterium Tuberculosis H37 Ra] se obtiene de Difco 1-800-521-0851 (Cat # 3114-60-5, 6X10 ml).

- 15 El Mycobacterium Tuberculosis también es obtenido de Difco, 1-800-521-0851 (Cat # 3114-33-8, 6 veces.100 mg).

Toxina Pertussis

La Bordetella Pertussis, (polvo liofilizado que contiene PBS y lactosa) se obtiene de List Biological Laboratories, 1-408-866-6363 (Producto #180, 50 ug).

Inducción de EAE en ratones

- 20 El péptido PLP139-151 es disuelto en H₂O:PBS (1:1) en solución a una concentración de 7,5 mg/10 ml (para 75 μ g de PLP por grupo) y se emulsifica con un volumen igual de CFA suplementado con 40 mg/10 ml de H37Ra de Mycobacterium tuberculosis muerto por calor. Los ratones son inyectados s.c. con 0,2 ml de emulsión de péptido en el flanco abdominal (0,1 ml en cada lado). En el mismo día y 72 horas después, los ratones son inyectados por vía i.v. con 100% de 35 ng y 50 ng de toxina de Bordetella Pertussis en solución salina respectivamente.

25 Evaluación clínica

ETAPA 0: Normal

ETAPA 0,5: Cola con flacidez parcial

ETAPA 1: Cola con flacidez completa

ETAPA 2: Reflejo de recuperación alterado

- 30 ETAPA 2,5: Reflejo de recuperación retardado (No suficientemente débil para ser etapa 3).

ETAPA 3: Parálisis parcial de las extremidades posteriores

ETAPA 3,5: Una pata está completamente paralizada y una pata está parcialmente paralizada

ETAPA 4: Parálisis completa de extremidades posteriores

ETAPA 4,5: Las patas están completamente paralizadas y moribundo

- 35 ETAPA 5: Muerte debida EAE

Evolución clínica de EAE

Fase aguda: Primer episodio clínico (Día 10-18)

- 40 Remisión: Fase de mejora clínica después de un episodio clínico; caracterizado por una reducción (\geq un grado) en calificación clínica durante al menos dos días después de la calificación pico de la fase aguda o de una reincidencia de la enfermedad.

Reincidencia: Incremento de al menos un grado en la calificación clínica durante al menos dos días después de que la remisión ha sido alcanzada.

Se espera que los animales tratados con los compuestos de esta invención en general muestren mejoras en las calificaciones clínicas.

B. Este ejemplo ilustra un protocolo para determinar la eficacia de los compuestos de la presente invención para el tratamiento de apoplejía utilizando un modelo animal.

5 Ratas Sprague Dawley macho (Charles River) con peso de 280-320 g reciben acceso libre a alimento y agua y son aclimatados durante un mínimo de 4 días antes de su uso en experimentos. Todas las ratas para uso en los estudios se someten a ayuno comenzando a las 3:00 pm del día anterior a la cirugía pero se les da a acceso libre a agua. Antes de la cirugía se pesa cada rata. La rata es inducida inicialmente con isoflurano al 5% (Aerrane, Fort Dodge), combinado con 30% de O₂, 70% de N₂O durante 2-5 minutos. La rata es colocada entonces en una almohadilla con calentamiento por agua circulante y en un cono de nariz para respiración espontánea de los gases anestésicos. El isoflurano es reducido a 2%. Se inserta una sonda rectal y se mantiene la temperatura corporal a 36,5-37,5°C. El pelo es recortado y todos los sitios quirúrgicos y estas regiones serán frotadas con Betadina.

Procedimiento quirúrgico

15 Se coloca una sonda de músculo temporal en el músculo temporal derecho y se monitoriza la "temperatura del cerebro". Se hace una incisión en la línea media del cuello en el tórax superior de la rata. Se hace disección cuidadosa, aislamiento y retracción de los músculos esternomastoideo, digástricos y estemoideo para exponer las arterias carótidas común, interna y externa. La arteria carótida común es aislada con una sutura de seda 5-0. Durante la cirugía la sutura es liberada permitiendo la repercusión cada 2-4 minutos. Las arterias carótida externa derecha y tiroidea superior son aisladas también y la tiroidea superior es cauterizada, mientras que la carótida externa es ligada distalmente con una sutura de seda 5-0. Otra sutura de seda 5-0 es atada holgadamente a la arteria carótida externa. La arteria occipital es aislada, ligada y sometida a una incisión. La carótida interna es aislada.

25 Con las arterias carótidas común y externa inmovilizadas, se coloca una pinza para aneurisma en la arteria carótida interna. Se hace una pequeña incisión en el extremo distal de la carótida externa. Una sutura de nilón 3-0 recubierta con poli-L-isina es insertada entonces en la carótida externa y hacia dentro de la arteria carótida común. La sutura de seda 5-0 atada ligeramente alrededor de la carótida externa es apretada ahora suavemente alrededor del filamento. La arteria carótida externa recibe entonces una incisión y la pieza remanente de la arteria carótida externa con el filamento se hace rotar de una manera que el filamento pueda ser insertado en la arteria carótida interna dependiendo la longitud de la inserción del peso y ras y cepa de la rata. En ratas Sprague Dawley el monofilamento es insertado 18-19 mm (18 mm para ratas que pesan < 300 g, 19 mm para ratas que pesan ≥ 300 g) bloqueando efectivamente el flujo sanguíneo a la arteria cerebral media.

35 La vena yugular externa será canulada con tubuladura PE 50 para administración I.V. de compuestos. La cánula será exteriorizada en el afeitado previo, en el cogote del cuello y suturada en su lugar. La herida será cerrada por medio de sutura. La arteria femoral derecha es cateterizada para la determinación de gases sanguíneos y glucosa durante la cirugía.

40 Dos horas después de la inserción de la sutura monofilamento las ratas son reanestesiadas con la misma combinación anestésica usada inicialmente y colocadas de regreso en el cono de nariz con la reducción de la concentración de isoflurano a 2%. La incisión en el cuello es reabierto para exponer la arteria carótida externa. La restauración de flujo sanguíneo se logra extrayendo completamente la sutura intraluminal de las arterias carótidas. La incisión es cerrada entonces con seda 3-0 en una costura interrumpida.

Administración del compuesto

45 Cinco grupos de 15 animales son sometidos a la metodología anterior. Los compuestos son infundidos (I.V.) a diversas dosis (respuesta a la dosis) a lo largo de diferentes períodos de tiempo después de MCAo. Se infunde una concentración predeterminada durante un período de tiempo preseleccionado comenzando a diversos intervalos después de MCAo. Los controles tratados con vehículos reciben una infusión normalmente de 0,9 ml/hora. Se ejecuta al mismo tiempo un control de compuesto positivo.

Pruebas neurológicas

50 Antes de la cirugía, 2 horas después de la aparición de la isquemia y 24 horas después de la isquemia se lleva a cabo una batería de pruebas neurológicas. La prueba de reflejo postural, la cual está diseñada para examinar la postura del cuerpo superior, cuando la rata es suspendida por la cola por encima de una superficie plana, una rata normal extenderá el cuerpo completo y ambas extremidades anteriores hacia la superficie. Las ratas con un infarto flexionaran consistentemente la extremidad contralateral y muestran signo de rotación corporal. Las ratas responden a un empuje lateral suave con un dedo por detrás de los hombros. Una rata normal resistiría tal empuje, mientras que una rata con un infarto no lo hará. La colocación de la extremidad anterior es provocada en respuesta a estímulo visual y táctil. El animal es sostenido por el cuerpo de tal manera que la superficie de la pata delantera lateral o dorsal es colocada contra un banco. Esta prueba es repetida pero en esta ocasión obstruyendo la vista de la rata.

Al terminar cada experimento, todos los animales son anestesiados profundamente con isoflurano (5%), sometidos a eutanasia por decapitación y los cerebros son retirados, el grado y localización del daño isquémico es verificado histológicamente por medio de cloruro de tetrazolio.

- 5 C. Este ejemplo ilustra la actividad inflamatoria de los compuestos de esta invención usando un modelo de colitis distal inducida por ácido 2,4-dinitrobenzenosulfónico (DNBS) (un modelo de enfermedad intestinal inflamatoria).

Sustancia de prueba y patrón de dosificación

10 Un compuesto de esta invención es disuelto en vehículo de Tween 80 al 2% en agua destilada para administración oral a una dosis de 50 mg/kg o disuelta en vehículo de Tween 80 al 2% y NaCl al 0,9% para inyección intraperitoneal a 30 mg/kg. Esta dosis se da una vez al día durante 7 días consecutivos. El volumen de dosificación es 10 ml/kg. El DNBS fue cargado 2 horas después de la dosificación en el segundo día.

Animales

15 En estos estudios, pueden utilizarse ratas Long Evans, Wistar macho provistas por el centro de crianza de animales de MDS Panlabs Taiwan, Ltd. y ratones macho derivado de Balb/cByJ (con pesos de 20 ± 2 g), provistos por el National Laboratory Animals Breeding Research center (NALBRC, Taiwan). La localización distribución espacial de 6 animales puede ser de 45x23x15 cm. Los animales son alojados en jaulas APEC® (Allentown Caging, Allentown, N.J. 08501, Estados Unidos) en un aislador de presión positiva (NuAire®, Mode: Nu-605, velocidad de flujo de aire $25,4 \pm 2,54$ cm/s, filtro HEPA) y mantenidos en un ambiente de temperatura (22°C - 24°C) y humedad (60%-80%) controladas con ciclos de luz y oscuridad de 12 horas durante al menos una semana en el laboratorio de MDS Panlabs Taiwan antes de ser usados. Se garantiza el acceso libre a alimentación de laboratorio estándar para ratas 20 (Fwusow Industry Co., Limited, Taiwan) y agua del grifo. Todos los aspectos de este trabajo incluyendo el alojamiento, la experimentación y la disposición de los animales se llevan a cabo en concordancia general con la International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals (CIOMS Publication No. ISBN 92 90360194, 1985).

Agentes químicos

- 25 El DNBS es obtenido de TCI, Tokyo, Japón, el etanol es de Merck, Alemania y la sulfasalazina es adquirida de Sigma, Estados Unidos.

Equipo

30 Balanza electrónica (Tanita, modelo 1140, Japón), balanza electrónica (Sartorius, R160P, Alemania), jeringa de vidrio (2 ml, Mitsuba, Japón), aguja oral para ratas, aguja hipodérmica (25G.veces, 1"TOP Corporation, Japón), tijeras de acero inoxidable (Klappenclear, Alemania), fórceps de acero inoxidable (Klappenclear, Alemania).

Procedimiento

35 Se usaron grupos de 3 ratas macho derivadas de Wistar con peso de 180 ± 20 g. Se induce colitis distal por instilación intracolónica de DNBS (ácido 2,4-dinitrobenzeno sulfónico, 30 mg en 0,5 ml de etanol al 30%) después de lo cual, se inyectaron suavemente 2 ml de aire a través de la cánula para asegurar que la solución permanece en el colon. La sustancia de prueba se administra oralmente (PO) a una dosis de 50 mg/kg o intraperitonealmente (IP) a 30 mg/kg una vez al día durante 7 días consecutivos. Se instila el DNBS en el colon distal de cada animal 2 horas después de la dosificación en el segundo día. El grupo de control es tratado de manera similar con vehículos solo y se usa sulfasalazina (300 mg/kg, PO) como agente de referencia. Los animales son sometidos a ayuno 24 horas antes del desafío con DNBS y 24 horas después del tratamiento final cuando son sacrificados y cada colon es retirado y pesado. Durante los experimentos, se registra diariamente la presencia de diarrea. Cuando la cavidad abdominal se abre antes de retirar el colon, se notan adhesiones entre el colon y otros órganos. Después de pesar el colon, el grado de ulceración del colon se observa y se anota también. La relación de peso colon a cuerpo es calculada entonces para cada animal de acuerdo con la fórmula: $\text{Colon (g)/BW} \times 100\%$. El incremento "Neto" en la relación de vehículo-control + grupo con DNBS con respecto al grupo de vehículo control se utiliza como valor base 40 para comparación con los grupos tratados con la sustancia de prueba y expresado como porcentaje de descenso en la inflamación. Un 30 por ciento o más (30%) de descenso en la relación en peso "Neta" colon a cuerpo para cada grupo tratado con sustancia de prueba con respecto al grupo tratado con vehículo+DNBS "neto" se considera significativo.

- 50 D. Este ejemplo ilustra la actividad antiinflamatoria del presente compuesto utilizando un modelo de edema de pata inducido por carragenano (un modelo de inflamación, carragenano).

Sustancia de prueba y patrón de dosificación

Un compuesto de esta invención es disuelto en vehículo de Tween 80 al 2%/NaCl al 0,9% y se administra intraperitonealmente a una dosis de 30 mg/kg 30 minutos antes de la carga de carragenano (es 1% 0,1 ml/pata). El volumen de dosificación es 10 ml/kg.

Animales

Los animales son acondicionados de acuerdo con los procedimientos fijados en el Ejemplo previo.

Agentes químicos

5 El carragenano es obtenido de TCI, Japón; la solución salina libre de pirógenos es de Astar, Taiwán; y la aspirina es adquirida en ICN BioMedicals, Estados Unidos.

Equipo

Jeringa de vidrio (1 ml y 2 ml de Mitsuba, Japón), aguja hipodérmica 24Gx1” (Top Corporation, Japón), Pletismómetro #7150 (UGO Basile, Italia) y celda de agua de 25 mm de diámetro, #7157 (UGO Basile, Italia).

Procedimiento

10 La sustancia de prueba (Ejemplo) es administrada IP (30 mg/kg) a grupos de 3 ratas en ayuno nocturno machos derivadas de Long Evans con pesos de 150±20 gramos 30 minutos antes de la inyección en la pata trasera derecha de carragenano (0,1 ml de suspensión al 1% intraplantar). El edema en la pata trasera como una medida de la inflamación se registra 3 horas después de la administración de carragenano utilizando un pletismómetro (Ugo Basile Cat. #7150) con celda de agua (25 mm de diámetro, Cat. #7157). La reducción del edema de la pata trasera
15 en 30 por ciento o más (≥ 30%) indica una actividad antiinflamatoria aguda significativa.

E. Este ejemplo ilustra la actividad antiinflamatoria de los compuestos presentes utilizando un modelo de ratones Balb/c sometidos a artritis inducida por colágeno de anticuerpo monoclonal (mAb) tipo II

Sustancia de prueba y patrón de dosificación

20 Un compuesto de esta invención es disuelto en vehículo de Tween 80 al 2%/NaCl al 0,9%, a dosis de 50 o 30 y administrado oralmente (50 mg/kg) o intraperitonealmente a 30 mg/kg una vez al día durante 3 días consecutivos después de que se ha inyectado el anticuerpo monoclonal de colágeno. El volumen de dosificación es de 20 ml/kg.

Animales

Los animales son acondicionados de acuerdo con los procedimientos fijados en el Ejemplo previo.

Agentes químicos

25 El lipopolisacárido es obtenido de Sigma, Estados Unidos; la indometacina es de Sigma, Estados Unidos; Arthrogen-CIA TM. Los anticuerpos monoclonales D8, F10, DI-2G son obtenidos de IBL, Japón; la solución salina regulada con fosfato es adquirida de Sigma, Estados Unidos; y el Tween 80 es de Wako, Japón.

Equipo

Pletismómetro (Ugo Basile, Italia) y celda de agua (Ugo Basile, Italia).

30 Procedimiento

Se utilizaron grupos de 5 ratones de cepa Balb/cByJ, de 6-8 semanas de edad, para la inducción de artritis por anticuerpos monoclonales (mAbs) que responden a colágeno tipo II, más lipopolisacárido (LPS). Los animales reciben administración intravenosa con una combinación de 4 mAbs diferentes en un total de 4 mg/ratón en el día 0, y seguido por 25 µg intravenosos de LPS 72 horas después (día 3). A partir del día 3, una hora después de la
35 administración de LPS, se administran ML-659 a 50 mg/kg (PO) o 30 mg/kg (IP) y vehículo (Tween 80 al 2%/NaCl al 0,9%, PO) así como la indometacina de control positivo, 3 mg/kg (PO) una vez al día durante 3 días consecutivos. Se utiliza un pletismómetro (Ugo Basile, Cat #7150) con celda de agua (12 mm de diámetro) para la medición de incremento en el volumen de las dos patas traseras en los días 0, 5, 7, 10, 14 y 17. El porcentaje de inhibición de incremento en volumen se calcula mediante la siguiente fórmula:

40
$$\text{Inhibición (\%)} : [1-(T_n - T_0)/(C_n - C_0)] \times 100$$

donde

Co (Cn): volumen del día 0 (día n) en control con vehículo

To (Tn): volumen del día 0 (día n) en grupo tratado con compuesto de prueba.

La reducción en ambos edemas de las patas traseras en más del 30% se considera significativo.

45 **Ejemplo 7**

Modelo de dolor neuropático

Este ejemplo ilustra la actividad analgésica de los compuestos de esta invención utilizando un modelo de ligación de nervio ciático de dolor mononeuropático.

Sistema de prueba

- 5 Se utilizan ratas macho adultas Sprague Dawley (SD) con pesos de 250±300 g (Charles River Laboratories, San Diego, CA). El habitáculo del animal es iluminado artificialmente con un ciclo de 12 horas de luz-oscuridad (de 7 A.M. a 7 P.M.) con suministro de agua y alimento *ad libitum*. Los animales son distribuidos aleatoriamente en grupos.

Inducción del modelo

Ligación del nervio ciático (SNL, modelo de Seltzer):

- 10 Bajo anestesia con pentobarbital (50 mg/kg, i.p.) y técnicas asépticas, la lesión en el nervio selectiva es creada ligando apretadamente la porción selectiva del nervio ciático común de acuerdo con el procedimiento de Seltzer (1990). En resumen, el alto nivel de ajuste del nervio ciático es expuesto después de la incisión en la piel y separación directa de músculos en un sitio cercano al trocánter justo distal al punto en el cual las ramificaciones nerviosas del nervio de semitendón del bíceps posterior se ramifica del nervio ciático común. El nervio es fijado
 15 entonces en esta posición con fórceps finos pinzando el epineurio sobre su cara dorsal, teniendo cuidado de no presionar el nervio contra estructuras subyacentes. Se inserta una sutura de seda hilada con silicona 8-0 en el nervio con una miniaguja de corte reverso curvada en 3/8, y ligada apretadamente de tal forma que el dorsal 1/3-1/2 del nervio es atrapado en la ligadura. Los músculos son suturados en capas, y la piel es cerrada con pinzas para heridas. Los animales son regresados luego a sus jaulas de alojamiento. Las ratas que exhiben déficits neurológicos
 20 postoperatorios o pobre acalamiento son excluidas de los experimentos.

Equipo

Se utiliza el siguiente equipo en los estudios presentes: juego de filamento von Frey (Touch-test Sensory Evaluator, North Coast Medical Inc., Morgan Hill, CA).

Procedimientos estadísticos:

- 25 Dentro de cada experimento se calculan la media, el error estándar de la media (SEM) y el significado estadístico utilizando las funciones de promedio, error estándar de la media y las pruebas t de dos colas no pareadas, utilizando Microsoft Excel[®]. El significado estadístico de los efectos observados en los experimentos individuales se determina utilizando Prism (GraphPad Software Inc., San Diego, CA) para el análisis de una vía o dos vías de la función de varianza (ANOVA). Se llevan a cabo análisis estadísticos con un límite de confianza de 0,95 y un nivel de
 30 significado de 0,05,

Ejemplo 8

Formación de poros

- Se siembran células THP-1 (ATCC Cat # 285-IF-100) en placas de 96 pozos en una concentración de 200.000 células por pozo y se dejan diferenciar en medio RPMI-1640 (ATCC Cat # 30-2001) que contiene FBS al 10%, 100
 35 IU/ml de penicilina, 100 ug/ml estreptomina, 100 ng/ml de LPS y 100 ng/ml de IFN- γ durante 16 horas. Después de la diferenciación, las células son pretratadas con el compuesto de interés a la concentración apropiada durante 30 minutos en medio RPMI-1640 que contiene 100 IU/ml de penicilina, 100 ug/ml de estreptomina. El medio de pretratamiento es reemplazado entonces con regulador de ensayo (HEPES 20 mM, d-glucosa 10 mM, NMDG 118 mM, KCl 5 mM, CaCl₂ 0,4 mM) que contiene Yo-Pro 1 5 uM (Molecular Probes Cat # Y3603) y el compuesto de
 40 interés en la concentración apropiada y las células son incubadas durante 10 minutos adicionales. Se agrega entonces 5'-trifosfato de 2',3'-O-(4-benzoilbenzoil)-adenosina (Sigma Aldrich Cat# B6396) hasta una concentración final de 40 uM, y las lecturas de fluorescencia se miden a 491/509 de excitación/emisión cada minuto durante 50 minutos usando un lector de placas Tecan Safire. Durante este tiempo, la temperatura se mantiene a 37°C. Los
 45 niveles de fluorescencia ajustados contra el fondo entre las células tratadas y no tratadas con fármaco se utilizan para calcular el porcentaje de inhibición.

Ejemplo 9

Ensayo de liberación de IL-1 β

- Las células THP-1 (ATCC Cat # 285-IF-100) se siembran en placas de 96 pozos a una concentración de 200000 células por pozo y se dejaron diferenciar en medio RPMI-1640 (ATCC Cat # 30-2001) que contenía FBS al 10%, 100
 50 IU/ml de penicilina, 100 ug/ml de estreptomina, 100 ng/ml de LPS y 100 ng/ml de IFN- γ durante 16 horas. Después de la diferenciación, las células son tratadas durante 2 horas adicionales en medio RPMI-1460 que contiene 100 IU/ml de penicilina, 100 ug/ml de estreptomina y LPS fresco a 100 ng/ml. Las células son pretratadas entonces durante 30 minutos con el compuesto de interés a la concentración apropiada en medio RPMI que contiene 100

IU/ml de penicilina, 100 ug/ml de estreptomina. Después del pretratamiento se agrega 5'-trifosfato de 2',3'-O-(4-benzoilbenzoil)-adenosina (Sigma Aldrich Cat# B6396) hasta una concentración final de 250 uM y las células son incubadas durante 45 minutos adicionales. Se recolectan 30 ul de sobrenadante de células y se determinan los niveles de IL-1 β a través de ELISA (R&D systems Cat. # HSLB50) de acuerdo con las recomendaciones del fabricante utilizando un lector de placas Tecam Safire. Los niveles de IL-1 β ajustados contra la señal de fondo del fármaco de las células tratadas y no tratadas con fármaco se utilizan para calcular el porcentaje de inhibición.

Ejemplo 10

Ensayo de influjo de calcio

Se siembran células 1321N1 (ECACC # 86030402) que expresan de manera estable P2X7 humano en una placa de 96 pozos a una densidad de 50.000 células/pozo en DMEM sin rojo de fenol (MediaTech # 17-205-CV) + 10% de FBS, penicilina 100 IU/ml, estreptomina 100 ug/ml, L-alanil-L-glutamina 2 mM (MediaTech # 25-015-CV) y 500 ug/ml de G418 durante 24 horas. El influjo de calcio se detecta utilizando un kit de ensayo de calcio BD (BD Bioimaging Systems # 80500-311) y un FLIPR^{test}^R Fluorometric Imaging Plate Reader Molecular Devices). En resumen, se agregan 100 ul de DMSO a un tubo de colorante. Se hace una solución de carga de colorante 1X que contiene 10 ml de HBSS/HEPES (980 ml de Solución Salina Balanceada de Hanks (Invitrogen # 14025-126) + 20 ml de HEPES 1M (Invitrogen #15630-080)), 500 ul de potenciador de la señal, 100 ul de Probenicid 250 mM y 5 ul del colorante reconstituido. El medio es retirado de las células y se agregan 100 ul de la mezcla de carga de colorante a cada pozo durante 60 minutos a 37°C en una incubadora con CO₂ al 5% seguida por 10 minutos a temperatura ambiente. El compuesto de interés en solución de HBSS/HEPES se agrega a la concentración deseada en cada pozo durante 30 minutos. Después del pretratamiento con compuesto, se agrega el agonista 5'-trifosfato de 2',3'-O-(4-benzoilbenzoil)-adenosina en HBSS/HEPES hasta una concentración final de 130 uM en cada pozo. Las lecturas de fluorescencia para cada pozo se hacen cada 1 segundo durante 20 segundos antes de, y 280 segundos después de la adición del agonista. Los valores máximo-mínimo ajustados contra la señal de fondo para las células tratadas versus las no tratadas con fármaco se utilizan para calcular el porcentaje de inhibición.

Ejemplo 11

Ensayo de liberación de IL-1 β en sangre humana entera

Se recolecta sangre humana entera en un tubo Vacutainer para plasma BD recubierto por aspersión con 150 unidades USP de heparina de sodio (BD #367874). Se ponen alícuotas de 150 ul de sangre entera en los pozos de una placa de ensayo de 96 pozos Costar (Corning, Inc. #3795). Se agrega LPS (EMD # 437625) en medio RPMI 1640 con HEPES 25 mM (Mediatech # 10-041-CV) hasta una concentración final de 200 ng/ml y la sangre se incuba durante 1 hora 30 minutos a 37°C en una incubadora con CO₂ al 5%. El compuesto de interés en el medio RPMI 1640 que contiene HEPES 25 mM se agrega hasta la concentración deseada y la sangre es incubada durante 30 minutos adicionales a 37°C en una incubadora con CO₂ al 5%. Se prepara ATP (Sigma # A6559) en HEPES 25 mM (Invitrogen #15630) y el pH se ajusta a 7,0 con hidróxido de sodio. Después del tratamiento con compuesto, se agrega ATP a la sangre entera hasta una concentración final de 2,5 mM y la sangre se incuba entonces durante 45 minutos a 37°C en una incubadora con CO₂ al 5%. Las placas se hacen rotar entonces a 1000 g durante 2 minutos y se recolecta el plasma. Los niveles de IL-1 β en plasma se determinan a través de ELISA (R&D systems Cat. # HSLB50) de acuerdo con las recomendaciones del fabricante utilizando un lector de placas Tecan Safire. Los niveles de IL-1 β ajustados contra la señal de fondo de sangre tratada y no tratada con fármacos se utilizan para calcular el porcentaje de inhibición.

Además de los compuestos ejemplificados más arriba, se han preparado diversos otros compuestos de esta invención utilizando el procedimiento y los procedimientos de síntesis descritos más arriba, o a través de modificación rutinaria de los procedimientos descritos aquí, y los correspondientes materiales de partida, reactivos apropiados, y procedimientos de purificación conocidos por los experimentados en el arte. De acuerdo con lo anterior, los compuestos preparados junto con sus datos analíticos se presentan en la Tabla 1, más adelante.

Los ejemplos de síntesis y biológicos descritos en esta solicitud se ofrecen para ilustrar esta invención y no se deben considerar de ninguna manera como limitantes del ámbito de esta invención. En los ejemplos, todas las temperaturas están en grados Celsius (a menos que se indique otra cosa). Los compuestos que han sido preparados de acuerdo con la invención junto con sus datos de actividad biológica se presentan en la siguiente Tabla. La síntesis de estos compuestos representativos se lleva a cabo de acuerdo con los procedimientos fijados más arriba.

Compuestos ejemplares de la invención

Los siguientes compuestos han sido o pueden ser preparados de acuerdo con los procedimientos de síntesis descritos aquí por ejemplo, los procedimientos A-AA1, Los compuestos presentados en la Tabla 1 fueron probados en cuanto a su actividad en un modelo celular como se describe aquí. Específicamente, se pretrataron células con diferentes cantidades de los compuestos bajo prueba y se determinó la IL-1 β liberada como en el ejemplo 9, más arriba. Se hicieron mediciones y se determinaron los valores IC₅₀, presentados en la Tabla 1, más adelante, ajustando los datos a una ecuación logística de cuatro parámetros utilizando el software GraphPad Prism (GraphPad

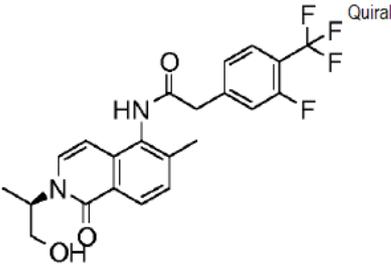
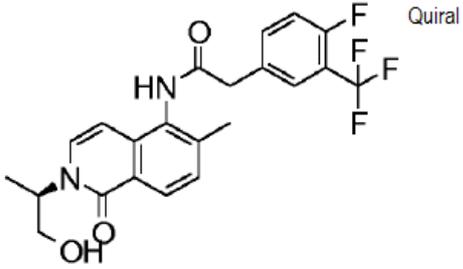
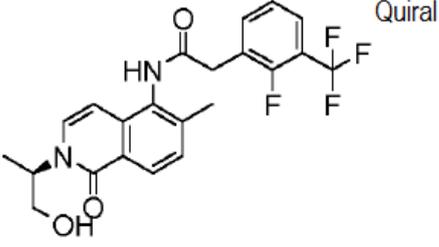
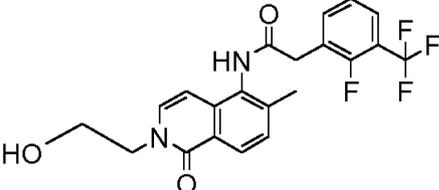
Software, Inc). La ecuación puede ser expresada por la siguiente fórmula:

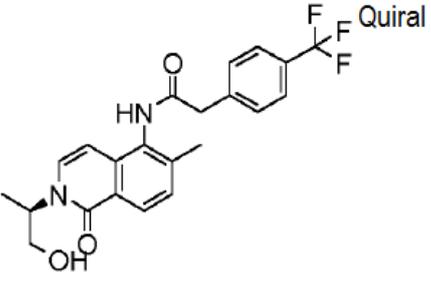
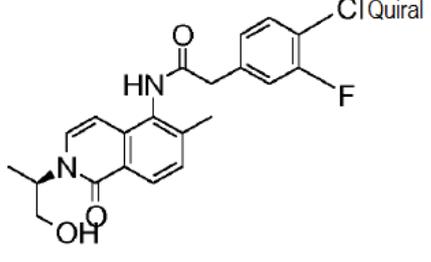
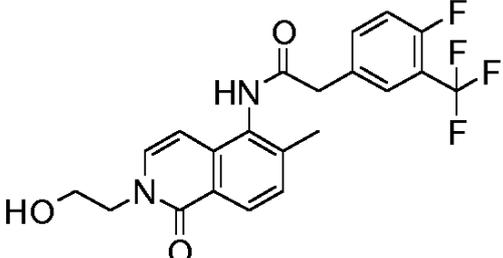
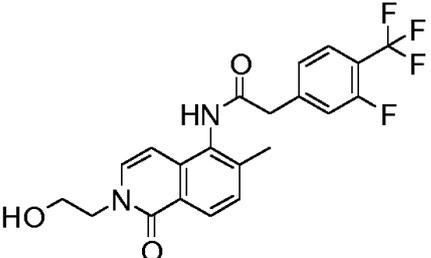
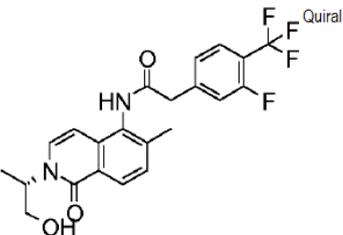
$$Y = \text{Inferior} + (\text{Superior} - \text{Inferior}) / (1 + 10^{-(\text{LogEC}_{50} - X) \cdot \text{Pendiente de colina}})$$

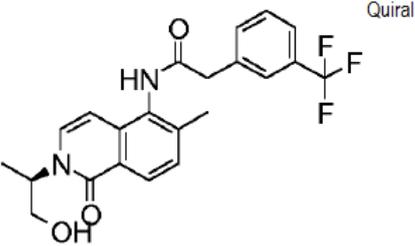
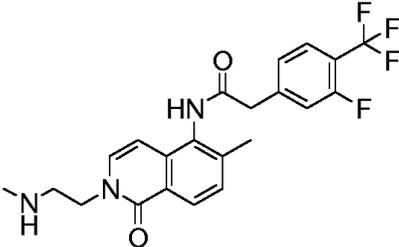
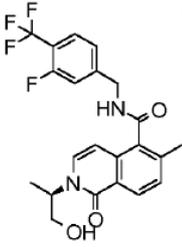
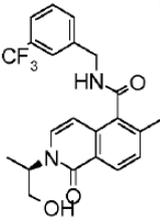
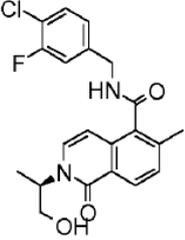
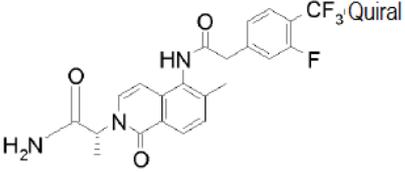
en donde X es el logaritmo de la concentración, Y es la respuesta y Y se inicia en el fondo y va hasta el tope con una forma sigmoide.

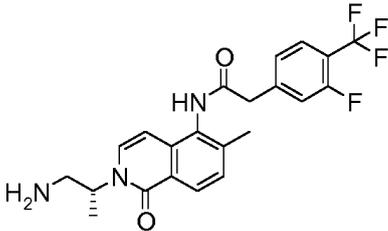
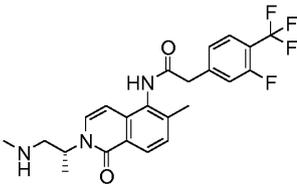
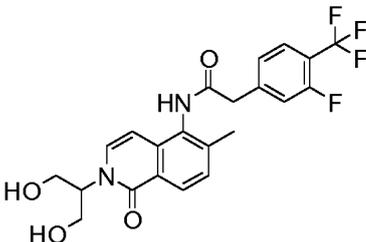
5

Tabla 1: Valores de IC₅₀ de IL-1β de los compuestos ejemplares

ID	Estructura	PM (Calc)	PM (Obs)	IL-1β IC ₅₀ (nM)
21		436,4	437,4	0,4
22		436,4	437,5	0,7
23		436,4	437,5	11
24		422,38	423,3	65

25		418,41	419,5	6
26		402,85	403,5	5
27		422,38	423,3	7
28		422,38	423,3	9
33		436,4	437,5	53

35	 <p style="text-align: right;">Quiral</p>	418,41	419,4	2
38		435,42	436,3	43
40	 <p style="text-align: right;">Quiral</p>	436,4	437,3	3
42	 <p style="text-align: right;">Quiral</p>	418,41	419,5	7
50	 <p style="text-align: right;">Quiral</p>	402,85	403,2	3
51	 <p style="text-align: right;">Quiral</p>	449,4	450,4	0,4

58		435,42	437,2	0,01
59		449,45	450,4	2
62		452,4	453,3	30

Semivida en microsomas de hígado humano (HLM)

Los compuestos de prueba (1 μ M) son incubados con MgCl₂ 3,3 mM y 0,78 mg/ml de HLM (HL 101) en regulador de fosfato de potasio 100 mM (pH 7,4) a 37°C en la placa de 96 pozos profundos. La mezcla de reacción se divide en dos grupos, un grupo sin P450 y un grupo con P450. El NADPH se agrega solamente a la mezcla de reacción del grupo P450. Se recolecta una alícuota de las muestras del grupo de P450 a 0, 10, 30 y 60 minutos de transcurso en el tiempo, en donde el punto de tiempo de 0 minutos indica el momento en el que se agrega el NADPH a la mezcla de reacción del grupo de P450. Se recolecta una alícuota de muestras del grupo sin P450 a -10 y 65 minutos en el transcurso del tiempo. Las alícuotas recolectadas son extraídas con solución de acetonitrilo que contienen un estándar interno. La proteína precipitada es hecha a rotar en centrífuga (2000 rpm, 15 minutos). La concentración del compuesto en el sobrenadante se mide mediante un sistema de LC/MS/MS.

El valor de semivida se obtiene representando gráficamente el logaritmo natural de la relación de área de pico de los compuestos/estándar interno versus tiempo. La pendiente de la línea de mejor ajuste a través de los puntos produce la rata de metabolismo (k). Esta es convertida en un valor de semivida utilizando las siguientes ecuaciones:

$$15 \quad \text{Semivida} = \ln 2 / k$$

Los resultados de las pruebas y los valores $T_{1/2}$ correspondientes se presentan en la Tabla 2 a continuación.

Tabla 2. Semivida en horas para compuestos ejemplares

ID	Semivida (horas)
21	1,5
22	0,7
23	1,4
25	4,6
26	1,6
28	3,7
40	2,6
42	0,8

ID	Semivida (horas)
51	1,3

Evaluación farmacocinética de los compuestos después de administración intravenosa y oral en ratas

Se aclimatan ratas macho Sprague Dawley durante al menos 24 horas antes del inicio del experimento. Durante el período de adaptación, todos los animales reciben alimento y agua *ad libitum*. Sin embargo, se retira el alimento pero no el agua de las jaulas de los animales al menos 12 horas antes del inicio del experimento. Durante las 3 primeras horas de experimentación, los animales reciben solamente agua *ad libitum*. Al menos cada 3 animales son probados en cuanto a la dosificación intravenosa y oral. Para la formulación intravenosa, los compuestos se disuelven (0,25 a 1 mg/ml) en una mezcla de dimetil sulfoxido al 3%, PEG400 al 40% y el resto del porcentaje de Captisol al 40% en agua (p/v). Los animales son pesados antes de la dosificación. El peso corporal determinado se utiliza para calcular el volumen de dosis para cada animal.

$$\text{Volumen de dosis (ml/kg)} = 1 \text{ mg/kg/concentración de formulación (mg/ml)}$$

En casos donde las concentraciones de la formulación son menores de 0,5 mg/ml, el volumen de dosificación es aproximadamente 2 ml/kg.

Para formulación oral, los compuestos de esta invención se suspenden (0,5 a 0,75 mg/ml) en una mezcla de 5% de Tween 80 al 10% en agua (v/v) y 95% de metil celulosa al 0,5% en agua (p/v). Las ratas PO son dosificadas típicamente a través de ingesta oral siguiendo la misma fórmula de volumen de dosis de IV para alcanzar un nivel de dosis de 1 a 5 mg/kg. Para la dosificación IV, se recolectan muestras de sangre (utilizando una jeringa preheparinizada) a través de un catéter en la vena yugular a 2, 5, 15, 30, 60, 120, 180, 300, 480, y 1440 minutos después de la dosificación. Para la dosificación de PO, se recolectan muestras de sangre (utilizando una jeringa preheparinizada) a través del catéter de la vena yugular antes de dosificar a 5, 15, 30, 60, 120, 180, 300, 480, y 1440 minutos después de la dosificación. Se obtienen aproximadamente 250 μ l de sangre en cada punto del tiempo del animal. Se hace reemplazo con volúmenes iguales de solución salina normal al 0,9% para prevenir la deshidratación. Las muestras de sangre entera son mantenidas sobre hielo hasta la centrifugación. Las muestras de sangre son centrifugadas entonces a 14,000 rpm durante 10 minutos a 4°C y la capa de plasma superior es transferida entonces a un vial limpio y almacenadas a -80°C. Las muestras de plasma resultantes son analizadas entonces por cromatografía líquida en tándem con espectrometría de masas. Después de la medición de las muestras de plasma y las soluciones de dosificación, se representa gráficamente la curva concentración-tiempo. La exposición en plasma es calculada como el área bajo la curva concentración-tiempo extrapolada a tiempo infinito (AUC_{inf}). El AUC_{inf} es promediado y se calcula la biodisponibilidad oral (%F) para un animal individual:

$$AUC_{inf} (PO)/AUC_{inf} (IV), \text{ normalizado a sus niveles de dosis respectivos}$$

El %F puede ser reportado como el %F medio de todos los animales dosificados oralmente con el compuesto de la invención al nivel especificado.

Los valores de %F de los compuestos probados se presentan en la Tabla 3, a continuación. Para el propósito de la Tabla 3, la biodisponibilidad oral de cada compuesto se expresa como sigue:

- "+" 0-25 % F
- "++" 26-50 % F
- "+++" 51-75 % F
- "++++" >75 % F

Tabla 3: Biodisponibilidad oral de compuestos ejemplares

ID	Biodisponibilidad oral F (%)
21	+++
22	++
23	++
25	++
26	+++

ID	Biodisponibilidad oral F (%)
28	++
40	++
42	++
51	+

Unión a proteína en el plasma

5 La unión a proteína en el plasma de los compuestos de la invención se mide en plasma humano y de rata, respectivamente. Se prepara una solución de reserva del compuesto de prueba en 1 mg/ml en solución de DMSO. La solución de reserva es sembrada en el plasma de blanco para obtener una concentración de compuesto final a 1 µg/ml para prueba. La diálisis en equilibrio (el aparato Harvard dializador en equilibrio de 96TM MWCO 5K Daltons) se utiliza para propósitos de la prueba.

10 El plasma sembrado con compuesto (a 1 µg/ml) y el regulador de fosfato (0,1 M, pH 7,4), 200 µl de cada uno, son agregados en los lados opuestos de la membrana en un dializador de equilibrio de 96 pozos, respectivamente. La placa del dializador es cubierta e incubada durante la noche (16 horas) a 37°C en la incubadora con rotación de 8 placas (rotador de 8 placas Big Shot III, Harvard Apparatus). Se toman alícuotas (100 µL) de los compartimientos de plasma y del regulador, respectivamente. Los efectos de matriz se eliminan agregando el mismo volumen de plasma blanco en las muestras desde los compartimientos de regulador y agregando el mismo volumen de regulador de fosfato en las muestras desde los compartimientos de plasma. Las muestras son extraídas utilizando el procedimiento de extracción de precipitación de proteína regular (3:1) (acetonitrilo con estándar interno). Los sobrenadantes son llevados al análisis por LC/MS/MS. El porcentaje de enlazamiento plasma-proteína puede ser calculado utilizando el siguiente procedimiento:

$$\% \text{Libre} = [\text{Fármaco libre} / \text{Fármaco total}] * 100 = [(\text{Área de pico})_{\text{regulador}} / (\text{Área de pico})_{\text{plasma}}] * 100$$

$$\% \text{ enlazado} = 100 - \% \text{ Libre}$$

20 Los valores de % de unión a proteína en plasma (enlazados) de los compuestos se presentan en la Tabla 4, a continuación. Para el propósito de la Tabla 4, la unión a proteína en plasma de cada compuesto se expresa como sigue:

"*" >90%

"**" 76-90%

25 "****" 51-75%

Tabla 4: Unión a proteína en plasma de los compuestos ejemplares

ID	Unión a proteína en plasma humano (%)
21	*
22	*
23	*
25	**
26	**
28	*
40	**
42	*

Al menos algunos de los nombres químicos de los compuestos de la invención tal como se dan y presentan en esta solicitud, pueden haber sido generados sobre una base automatizada mediante el uso de un programa de software

de denominación química disponible comercialmente, y no han sido verificados independientemente. Programas representativos que llevan a cabo esta función incluyen la herramienta de denominación Lexichem provista por Open Eye Software, Inc., y la herramienta Autonom Software provista por MDL, Inc. En el caso donde el nombre químico indicado y la estructura representada difieran, la estructura representada prevalece.

- 5 Las estructuras químicas mostradas aquí fueron preparadas utilizando ISIS[®]/DRAW. Cualquier valencia abierta que aparezca sobre un átomo de carbono, oxígeno o nitrógeno en estas estructuras aquí indica la presencia de un átomo de hidrógeno. Cuando existe un centro quiral en una estructura pero no se muestra una estereoquímica específica para el centro quiral, ambos enantiómeros asociados con la estructura quiral son abarcados por la estructura.

5 sustituido o no sustituido, alcoxicarbonilo sustituido o no sustituido, alquilarilamino sustituido o no sustituido, alquilarilamino sustituido o no sustituido, amino sustituido o no sustituido, un arilo sustituido o no sustituido, arilaquilo sustituido o no sustituido, sulfo, sulfo sustituido, sulfonilo sustituido, sulfinilo sustituido, sulfanilo sustituido, aminosulfonilo sustituido o no sustituido, alquilsulfonilo sustituido o no sustituido, arilsulfonilo sustituido o no sustituido, azido, carbamoilo sustituido o no sustituido, carboxilo, ciano, cicloalquilo sustituido o no sustituido, cicloheteroalquilo sustituido o no sustituido, dialquilamino sustituido o no sustituido, halo, heteroarilo, cicloheteroarilo sustituido o no sustituido, heteroalquilo sustituido o no sustituido, hidroxilo, nitro, y tior; y m se selecciona de 0-5;

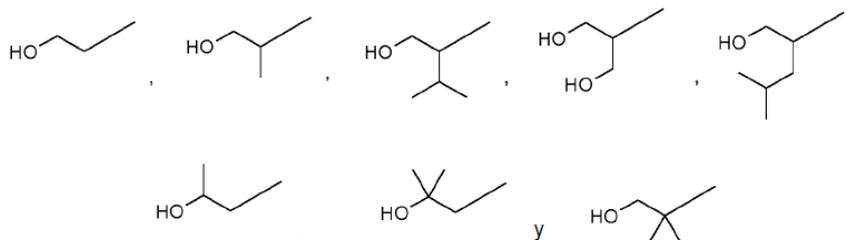
o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo;

10 y estereoisómeros, variantes isotópicas y tautómeros de los mismos.

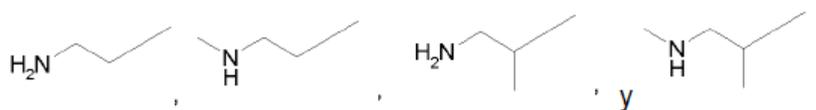
4. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 3, en el que m es 1, 2 o 3.

5. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 3 o 4, en el que cada R^{4a} es seleccionado independientemente de Me, Et, Ph, Cl, F, Br, CN, OH, OMe, OEt, OPh, COPh, CF₃, CHF₂, OCF₃, i-Pr, i-Bu, t-Bu, SMe, CH=CH-CO₂H, SOMe, SO₂Me, SO₃H, SO₃Me y piridilo.

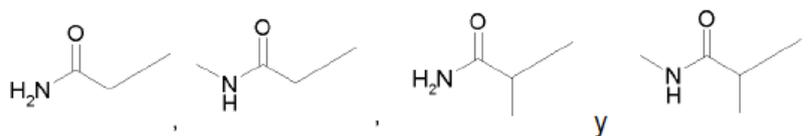
15 6. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en el que el grupo -L₁-R³ se selecciona de



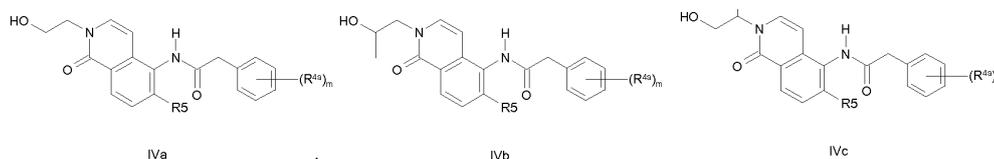
o



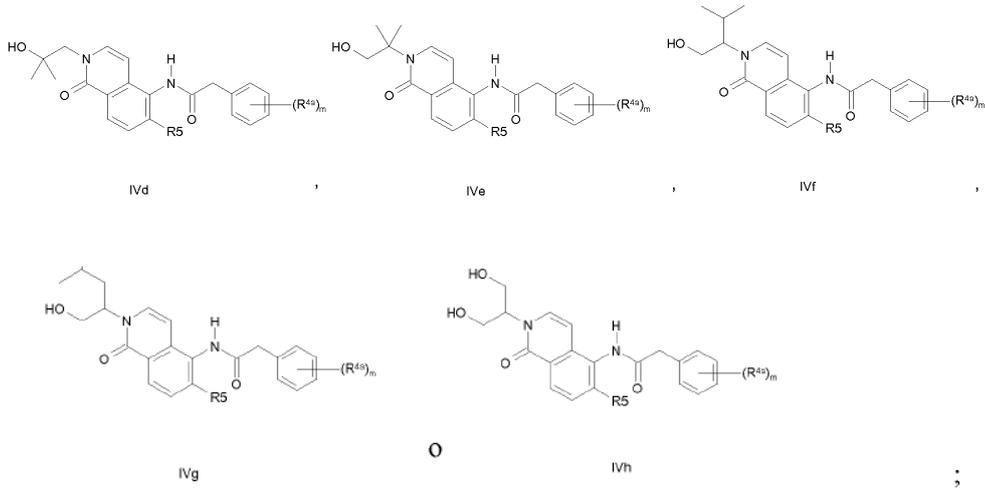
20 o



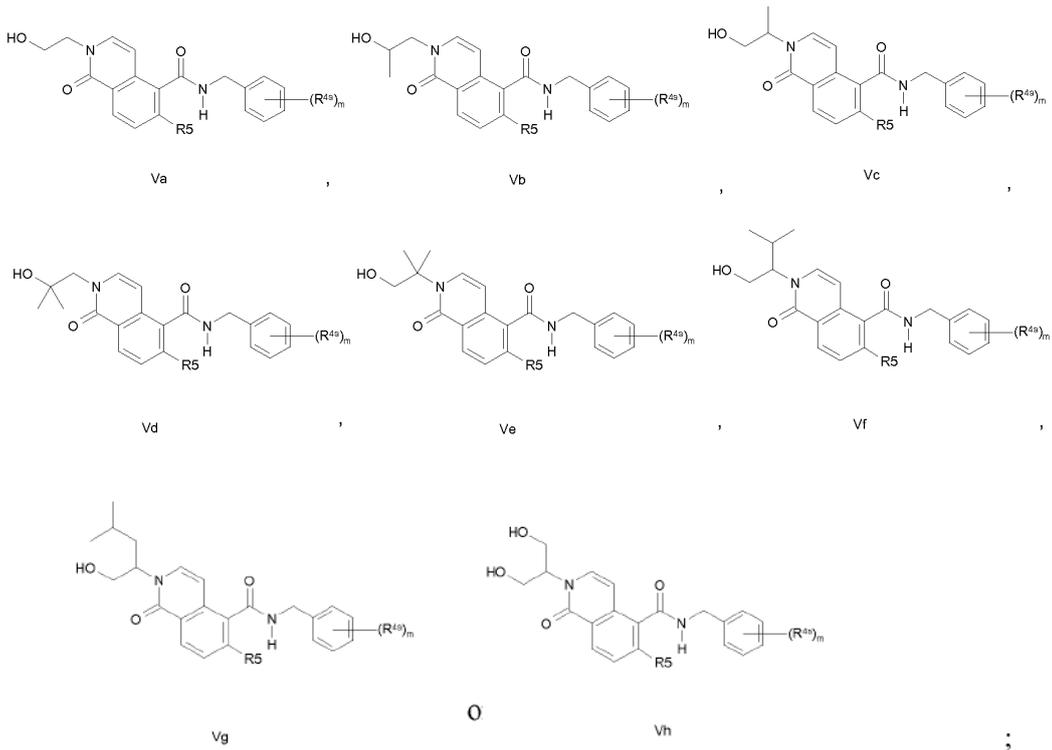
7. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el compuesto está de acuerdo con la fórmula IVa, IVb, IVc, IVd, IVe, IVf, IVg, o IVh:



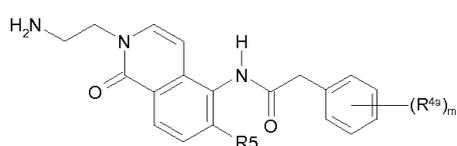
ES 2 576 643 T3



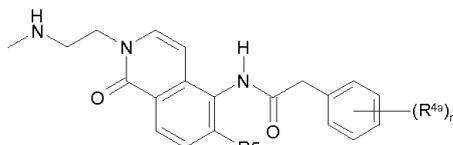
5 en las que cada R^{4a} es seleccionado independientemente de hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alcoxi sustituido o no sustituido, ciano, halo, y hidroxilo; y m se selecciona de 0-5; y R^5 es metilo; o de fórmula Va, Vb, Vc, Vd, Ve, Vf, Vg, Vh, Vi o Vj:



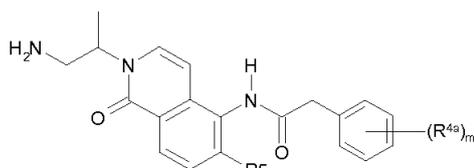
10 en las que cada R^{4a} es seleccionado independientemente de hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alcoxi sustituido o no sustituido, ciano, halo y hidroxilo; y m se selecciona de 0-5; y R^5 es metilo; o de fórmula VIa, VIb, VIc, o VIg,;



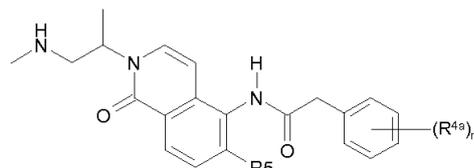
VIa



VIb

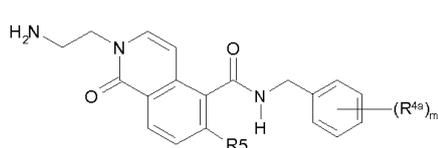


VIc

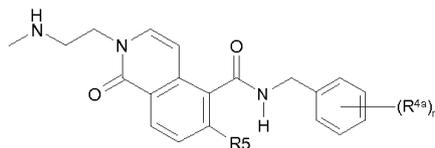


VIg

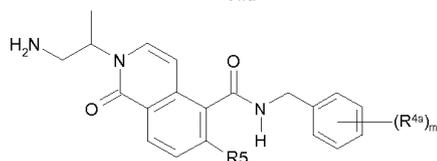
en las que cada R^{4a} es seleccionado independientemente de hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alcoxi sustituido o no sustituido, ciano, halo, y hidroxilo; y m se selecciona de 0-5; y R⁵ es metilo; o de fórmula VIa, VIb, VIc, o VIg,:



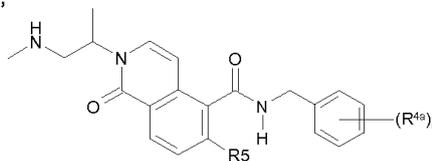
VIIa



VIIb



VIIc



VIIf

5

en las que cada R^{4a} es seleccionado independientemente de hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alcoxi sustituido o no sustituido, ciano, halo y hidroxilo; y m se selecciona de 0-5; y R⁵ es metilo.

8. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 7, en el que m es 1 o 2.

9. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 7 o 8, en el que cada R^{4a} es seleccionado independientemente de Me, Et, Cl, F, CN, OH, OMe, OEt, CF₃, CHF₂, OCF₃, i-Pr, i-Bu and t-Bu.

10. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el compuesto es seleccionado de:

2-(3-Fluoro-4-trifluorometil-fenil)-N-[2-((R)-2-hidroxi-1-metil-etil)-6-metil-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-acetamida;

2-(4-Fluoro-3-trifluorometil-fenil)-N-[2-((R)-2-hidroxi-1-metil-etil)-6-metil-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-acetamida;

2-(2-Fluoro-3-trifluorometil-fenil)-N-[2-((R)-2-hidroxi-1-metil-etil)-6-metil-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-acetamida;

15 2-(2-Fluoro-3-trifluorometil-fenil)-N-[2-(2-hidroxi-etil)-6-metil-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-acetamida;

N-[2-((R)-2-Hidroxi-1-metil-etil)-6-metil-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-2-(4-trifluorometil-fenil)-acetamida;

2-(4-Cloro-3-fluoro-fenil)-N-[2-((R)-2-hidroxi-1-metil-etil)-6-metil-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-acetamida;

2-(4-Fluoro-3-trifluorometil-fenil)-N-[2-(2-hidroxi-etil)-6-metil-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-acetamida;

2-(3-Fluoro-4-trifluorometil-fenil)-N-[2-(2-hidroxi-etil)-6-metil-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-acetamida;

20 2-(3-Fluoro-4-trifluorometil-fenil)-N-[2-((S)-2-hidroxi-1-metil-etil)-6-metil-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-acetamida;

N-[2-((R)-2-Hidroxi-1-metil-etil)-6-metil-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-2-(3-trifluorometil-fenil)-acetamida;

2-(3-Fluoro-4-trifluorometil-fenil)-N-[6-metil-2-(2-metilamino-etil)-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-acetamida;

ácido 2-((R)-2-Hidroxi-1-metil-etil)-6-metil-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolina-5-carboxílico de 3-fluoro-4-trifluorometil-bencilamida;

5 ácido 2-((R)-2-Hidroxi-1-metil-etil)-6-metil-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolina-5-carboxílico de 3-trifluorometilbencilamida;

ácido 2-((R)-2-Hidroxi-1-metil-etil)-6-metil-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolina-5-carboxílico de 4-doro-3-fluorobencilamida;

(R)-2- {5-[2-(3-Fluoro-4-trifluorometil-fenil)-acetilamino]-6-metil-1-oxo-1H-isoquinolin-2-il} -propionamida;

N-[2-((R)-2-Amino-1-metil-etil)-6-metil-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-2-(3-fluoro-4-trifluorometilfenil)-acetamida;

10 2-(3-Fluoro-4-trifluorometil-fenil)-N-[6-metil-2-((R)-1-metil-2-metilamino-etil)-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-5-il]-acetamida; y

2-(3-Fluoro-4-trifluorometil-fenil)-N-[2-(2-hidroxi-1-hidroximetil-etil)-6-metil-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-acetamida.

11. Una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y una cantidad farmacéuticamente efectiva de un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones precedentes.

15 12. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, para su uso como un producto farmacéutico.

13. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, para su uso como un producto farmacéutico en un procedimiento para el tratamiento o prevención de una enfermedad o afección seleccionadas de: dolor incluyendo dolor agudo, inflamatorio y neuropático, dolor crónico, dolor dental y dolor de cabeza incluyendo migraña, dolor de cabeza en racimo y dolor de cabeza por tensión, enfermedad de Parkinson, esclerosis múltiple; enfermedades y trastornos que son mediados por o que dan como resultado neuroinflamación, lesión cerebral traumática, encefalitis; enfermedades y trastornos neuropsiquiátricos mediados centralmente, manía por depresión, enfermedad bipolar, ansiedad, esquizofrenia, trastornos en la alimentación, trastornos de sueño y trastornos cognitivos; epilepsia y trastornos por ataques; disfunción de próstata, vejiga e intestino, incontinencia urinaria, dificultad urinaria, hipersensibilidad rectal, incontinencia fecal, hipertrofia prostática benigna y enfermedad inflamatoria del intestino; enfermedad y trastornos respiratorios y de las vías respiratorias, rinitis alérgica, asma y enfermedad reactiva de las vías respiratorias y enfermedad pulmonar obstructiva crónica; enfermedades y trastornos que son mediados por o dan como resultado inflamación, artritis, artritis reumatoide y osteoartritis, infarto del miocardio, diversas enfermedades y trastornos autoinmunes, uveítis y aterosclerosis; picazón/prurito, psoriasis; 20 30 Obesidad; trastornos lipídicos; cáncer; presión sanguínea; lesión de la médula espinal; y trastornos renales.

14. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, para su uso en un procedimiento para el tratamiento o prevención de una enfermedad o afección seleccionadas de: dolor incluyendo dolor agudo, inflamatorio y neuropático, dolor crónico, dolor dental y dolor de cabeza incluyendo migraña, dolor de cabeza en racimo y dolor de cabeza por tensión, enfermedad de Parkinson, esclerosis múltiple; enfermedades y trastornos que son mediados por o que dan como resultado neuroinflamación, lesión cerebral traumática, encefalitis; enfermedades y trastornos neuropsiquiátricos mediados centralmente, manía por depresión, enfermedad bipolar, ansiedad, esquizofrenia, trastornos en la alimentación, trastornos de sueño y trastornos cognitivos; epilepsia y trastornos por ataques; disfunción de próstata, vejiga e intestino, incontinencia urinaria, dificultad urinaria, hipersensibilidad rectal, incontinencia fecal, hipertrofia prostática benigna y enfermedad inflamatoria del intestino; enfermedad y trastornos respiratorios y de las vías respiratorias, rinitis alérgica, asma y enfermedad reactiva de las vías respiratorias y enfermedad pulmonar obstructiva crónica; enfermedades y trastornos que son mediados por o dan como resultado inflamación, artritis, artritis reumatoide y osteoartritis, infarto del miocardio, diversas enfermedades y trastornos autoinmunes, uveítis y aterosclerosis; picazón/prurito, psoriasis; Obesidad; trastornos lipídicos; cáncer; presión sanguínea; lesión de la médula espinal; y trastornos renales. 35 40