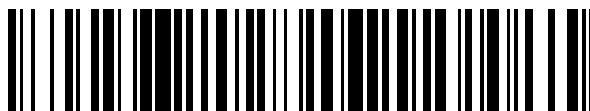


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 609 126**

51 Int. Cl.:

C07D 471/04 (2006.01)

A61K 31/407 (2006.01)

A61K 31/4184 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **26.07.2012** **PCT/EP2012/064649**

87 Fecha y número de publicación internacional: **30.01.2014** **WO14015905**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.07.2012** **E 12740581 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.11.2016** **EP 2877467**

54 Título: **2-(Azaindol-2-il)benzimidazoles como inhibidores de PAD4**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de la patente:
18.04.2017

73 Titular/es:

GLAXO GROUP LIMITED (100.0%)
980 Great West Road
Brentford, Middlesex TW8 9GS, GB

72 Inventor/es:

ATKINSON, STEPHEN JOHN;
BARKER, MICHAEL DAVID;
CAMPBELL, MATTHEW;
DIALLO, HAWA;
DOUAULT, CLEMENT;
GARTON, NEIL STUART;
LIDDLE, JOHN;
SHEPPARD, ROBERT JOHN;
WALKER, ANN, LOUISE;
WELLAWAY, CHRISTOPHER y
WILSON, DAVID MATTHEW

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 609 126 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

2-(Azaindol-2-il)benzimidazoles como inhibidores de PAD4

5 Campo de la invención

La presente invención se dirige a determinados compuestos nuevos, en conformidad con la reivindicación 1, que son inhibidores de PAD4, a los procesos para su preparación, a las composiciones farmacéuticas que comprenden a los compuestos y al uso de los compuestos o las composiciones en el tratamiento de diversos trastornos. Los compuestos que inhiben a PAD4 pueden ser útiles en el tratamiento de diversos trastornos, por ejemplo la artritis reumatoide, la vasculitis, el lupus eritematoso sistémico, la colitis ulcerosa, el cáncer, la fibrosis quística, el asma, el lupus eritematoso cutáneo y la psoriasis.

Antecedentes de la invención

PAD4 es un miembro de la familia de enzimas peptidilarginina desaminasas (PAD), que tienen la capacidad de catalizar la citrulinación de la arginina a citrulina dentro de secuencias peptídicas. PAD4 es responsable de la desiminación o la citrulinación de diversas proteínas *in vitro* e *in vivo*, con las consecuencias de diversas respuestas funcionales en diversas enfermedades (Jones J. E. *et al.*, Curr. Opin. Drug Discov. Devel., 12(5), (2009), 616-627). Ejemplos de enfermedades ilustrativas incluyen la artritis reumatoide, enfermedades con contribuciones neutrofílicas a la patogénesis (por ejemplo la vasculitis, el lupus eritematoso sistémico, la colitis ulcerosa) además de indicaciones en oncología. Los inhibidores de PAD4 también pueden tener una aplicabilidad más amplia como herramientas y productos terapéuticos para enfermedades humanas a través de mecanismos epigenéticos.

Los inhibidores de PAD4 pueden tener utilidad frente a la artritis reumatoide (AR). La AR es una enfermedad autoinmunitaria que afecta aproximadamente al 1 % de la población (Wegner N. *et al.*, Immunol. Rev., 233(1) (2010), 34-54). Se caracteriza por la inflamación de las articulaciones, conduciendo a la destrucción debilitante del hueso y el cartílago. Se ha sugerido una débil asociación genética entre los polimorfismos de PAD4 y la susceptibilidad a la AR, aunque de forma inconsistente, en varios estudios de población (Kochi Y. *et al.*, Ann. Rheum. Dis., 70, (2011), 512-515). Se ha detectado a PAD4 (junto con el miembro de la familia PAD2) en tejido sinovial, en donde es responsable de la desiminación de diversas proteínas articulares. Se presume que este proceso conduce a una ruptura de la tolerancia a, y al comienzo de, las respuestas inmunitarias para sustratos citrulinados tales como el fibrinógeno, la vimentina y el colágeno en las articulaciones con AR. Estos anticuerpos anti proteína citrulinada (AAPC) contribuyen a la patogenia de la enfermedad y también pueden utilizarse como una prueba diagnóstica para la AR (por ejemplo la prueba disponible de forma comercial para CCP2 o para la proteína citrulinada cíclica 2). Además, la citrulinación aumentada también puede ofrecer contribuciones directas adicionales a la patogenia de la enfermedad a través de su capacidad para afectar de forma directa la función de varios mediadores articulares e inflamatorios (por ejemplo, el fibrinógeno, la anti trombina, múltiples quimiocinas). En un subconjunto más pequeño de pacientes de AR, los anticuerpos anti PAD4 se pueden medir y se pueden correlacionar con una forma más erosiva de la enfermedad.

Además, los inhibidores de PAD4 pueden ser útiles para la reducción de la actividad patológica de los neutrófilos en diversas enfermedades. Los estudios sugieren que el proceso de formación de Trampas Extracelulares de Neutrófilos (NET, sigla del inglés: *Neutrophil Extracellular Trap*), un mecanismo de defensa innato mediante el cual los neutrófilos tienen la capacidad de inmovilizar y destruir patógenos, se asocia a la citrulinación de las histonas y es deficiente en ratones genosuprimidos para PAD4 (Neeli I. *et al.*, J. Immunol., 180, (2008), 1895-1902 y Li P. *et al.*, J. Exp. Med., 207(9), (2010), 1853-1862). Por lo tanto, los inhibidores de PAD4 tienen aplicabilidad en enfermedades en donde la formación de las NET en los tejidos contribuye a la lesión local y a la patología de la enfermedad. Tales enfermedades incluyen, pero sin limitación, la vasculitis de vasos pequeños (Kessenbrock K. *et al.*, Nat. Med., 15(6), (2009), 623-625), el lupus eritematoso sistémico (Hakim A. *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 107(21), (2010), 9813-9818 y Villanueva E. *et al.*, J. Immunol., 187(1), (2011), 538-52), la colitis ulcerosa (Savchenko A. *et al.*, Pathol. Int. 61 (5), (2011), 290-7), la fibrosis quística, el asma (Dworski R. *et al.*, J. Allergy Clin. Immunol., 127(5), (2011), 1260-6), la trombosis venosa profunda (Fuchs T. *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 107(36), (2010), 15880-5), la periodontitis (Vitkov L. *et al.*, Ultrastructural Pathol., 34(1), (2010), 25-30), la septicemia (Clark S. R. *et al.*, Nat. Med., 13(4), (2007), 463-9), la apendicitis (Brinkmann V. *et al.*, Science, 303, (2004), 1532-5) y el ictus. Además, hay pruebas de que las NET pueden contribuir a la patología de enfermedades que afectan a la piel, por ejemplo en el lupus eritematoso cutáneo (Villanueva E. *et al.*, J. Immunol., 187 (1), (538-52)) y la psoriasis (Lin A. M. *et al.*, J. Immunol., 187 (1), (2011), 490-500), así, un inhibidor de PAD4, cuando se administra mediante una vía sistémica o cutánea, puede mostrar beneficio para hacer frente a enfermedades de la piel por NET. Los inhibidores de PAD4 pueden afectar funciones adicionales en los neutrófilos y tener una aplicabilidad más amplia en enfermedades neutrofílicas.

Los estudios han demostrado la eficacia de la herramienta inhibidores de la PAD (por ejemplo la cloro amidina) en varios modelos animales de enfermedad, incluyendo la artritis inducida por colágeno (Willis V. C. *et al.*, J. Immunol., 186(7), (2011), 4396-4404), la colitis experimental inducida por dextrano sulfato de sodio (DSS) (Chumanevich A. *et al.*, Am. J. Physiol, Gastrointest, Liver Physiol., 300 (6), (2011), G929-G938) la reparación de la médula espinal

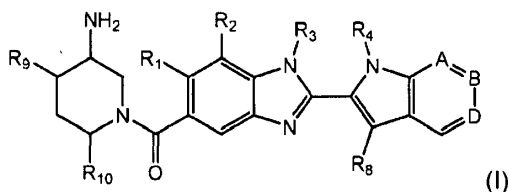
(Lange S. *et al.*, Dev. Biol., 355 (2), (2011), 205-14) y la encefalomiелitis autoinmunitaria experimental (EAE). El informe sobre la colitis por DSS también demuestra que la cloro amidina dirige la apoptosis de las células inflamatorias tanto *in vitro* como *in vivo*, lo que sugiere que los inhibidores de PAD4 pueden ser en general más eficaces en las enfermedades inflamatorias generalizadas.

Los inhibidores de PAD4 también pueden ser útiles en el tratamiento de los cánceres (Slack. J. L. *et al.*, Cell. Mol. Life Sci., 68(4), (2011), 709-720). Se ha demostrado en numerosos cánceres la expresión aumentada de PAD4 (Chang X. *et al.*, BMC Cancer, 9, (2009), 40). Se ha sugerido un papel anti proliferativo para los inhibidores de PAD4 a partir de la observación de que PAD4 citrulina restos de arginina en las histonas en los promotores de los genes diana de p53 tales como p21, que están implicados en la detención del ciclo celular y la inducción de la apoptosis (Li P. *et al.*, Mol. Cell Biol., 28(15), (2008), 4745-4758).

El papel de PAD4 mencionado anteriormente en la desaminación de los restos arginina en las histonas puede ser indicativo de un papel de PAD4 en la regulación epigenética de la expresión génica. PAD4 es el miembro principal de la familia de las PAD que se observa que es residente en el núcleo así como en el citoplasma. Las pruebas tempranas de que PAD4 puede actuar como una desmetilinasas de histonas, así como una desaminasa, es inconsistente y no se ha probado. Sin embargo, se puede reducir la metilación de las argininas de las histonas (y por lo tanto la regulación epigenética asociada a esta señal) de forma indirecta a través del empobrecimiento de los restos arginina disponibles mediante la conversión a citrulina. Por lo tanto, los inhibidores de PAD4 pueden ser útiles como herramientas epigenéticas o como productos terapéuticos para afectar la expresión de genes diana variados en contextos de enfermedad adicionales. A través de tales mecanismos, los inhibidores de PAD4 también pueden ser efectivos en el control de los niveles de citrulinación en células madre y por lo tanto pueden afectar de forma terapéutica el estado de pluripotencia y el potencial de diferenciación de diversas células madre que incluyen, pero sin limitación, células madre embrionarias, células madre neurales, células madre hematopoyéticas y células madre cancerosas.

Sumario de la invención

La invención se refiere a compuestos de fórmula (I):

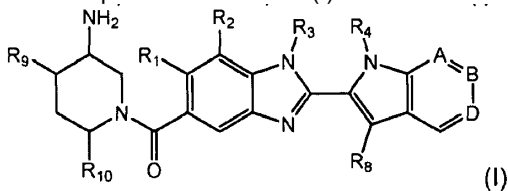


en la que R₁, R₂, R₃, R₄, A, B, D, R₈, R₉ y R₁₀ son como se definen en la reivindicación 1, y sales de los mismos.

Determinados compuestos de la invención han mostrado ser inhibidores de PAD4 y también han mostrado selectividad potenciada para PAD4 con respecto a PAD2. Por ejemplo, determinados compuestos de la invención indican una selectividad de 1000 veces para la inhibición de PAD4 sobre la inhibición de PAD2. Los compuestos que inhiben a PAD4 pueden ser útiles en el tratamiento de diversos trastornos, por ejemplo la artritis reumatoide, la vasculitis, el lupus eritematoso sistémico, la colitis ulcerosa, el cáncer, la fibrosis quística, el asma, el lupus eritematoso cutáneo y la psoriasis. Por consiguiente, la invención se dirige adicionalmente a composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de la fórmula (I) o a una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. La invención aún se dirige adicionalmente a un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de trastornos asociados a los mismos.

Descripción detallada de la invención

En un primer aspecto, se proporcionan compuestos de fórmula (I):



en la que;

- R_1 es hidrógeno o alquilo C_{1-6} ;
 R_2 es hidrógeno, alquilo C_{1-6} , perhalometil-alquil $C_{0-5}-O-$, o alcoxi C_{1-6} ;
 R_3 es hidrógeno, alquilo C_{1-6} , o alcoxi C_{1-6} -alquilo C_{1-6} ;
 R_4 es hidrógeno, alquilo C_{1-6} , perhalometil alquilo C_{1-6} ; o cicloalquil C_{3-6} -alquilo C_{1-6} sin sustituir;
 5 A es $C-R_5$ o N ;
 B es $C-R_6$ o N ;
 D es $C-R_7$ o N ;
 con la condición de que al menos uno de A , B y D , sea N ;
 R_5 es hidrógeno o alquilo C_{1-6} ;
 10 R_6 es hidrógeno o alquilo C_{1-6} ;
 R_7 es hidrógeno, alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , o hidroxil;
 R_8 es hidrógeno o alquilo C_{1-6} , con la condición de que uno de R_4 y R_8 sea hidrógeno;
 R_9 es hidrógeno o hidroxil;
 R_{10} es hidrógeno o alquilo C_{1-6} ;
 15 y sales de los mismos.
- En una realización, R_1 es hidrógeno.
- 20 En una realización, R_1 es alquilo C_{1-6} .
- En una realización, R_2 es hidrógeno o alcoxi C_{1-6} .
- En una realización, R_2 es alcoxi C_{1-6} .
- 25 En una realización, R_2 es perhalometil-alquil $C_{0-5}-O-$.
- En una realización, R_2 es trifluorometoxil.
- 30 En una realización, R_3 es hidrógeno.
- En una realización, R_3 es alcoxi C_{1-6} -alquilo C_{1-6} .
- En una realización, R_3 es alquilo C_{1-6} .
- 35 En una realización, R_4 es alquilo C_{1-6} , cicloalquil C_{3-6} -alquilo C_{1-6} sin sustituir, o perhalometilalquilo C_{1-6} .
- En una realización, R_4 es alquilo C_{1-6} , cicloalquil C_{3-6} -alquilo C_{1-6} sin sustituir, o perfluorometilalquilo C_{1-6} .
- 40 En una realización, R_5 es hidrógeno.
- En una realización, R_6 es hidrógeno.
- En una realización, R_7 es hidrógeno, alcoxi C_{1-6} , o hidroxil. En una realización, R_7 es hidrógeno.
- 45 En una realización, R_8 es hidrógeno.
- En una realización, R_9 es hidrógeno.
- 50 En una realización, R_9 es hidroxil.
- En una realización, R_{10} es hidrógeno.
- En una realización, el compuesto de la invención se selecciona entre la lista que consiste en:
- 55 1-[[2-(1-etil-1H-pirrol-3,2-c)piridin-2-il)-1-metil-1H-benzimidazol-5-il]carbonil]-3-piperidinamina;
 (R)-(3-aminopiperidin-1-il)(2-(1-etil-1H-pirrol-2,3-b)piridin-2-il)-1-metil-1H-benzod[imidazol-5-il]metanona;
 (R)-(3-aminopiperidin-1-il)(2-(1-etil-1H-pirrol-2,3-c)piridin-2-il)-1-metil-1H-benzod[imidazol-5-il]metanona;
 (R)-(3-aminopiperidin-1-il)(1-metil-2-(1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-pirrol-2,3-b)piridin-2-il)-1H-benzod[imidazol-5-il]metanona;
 60 (R)-(3-aminopiperidin-1-il)(2-(1-(ciclopropilmetil)1H-pirrol-2,3-b)piridin-2-il)-1-metil-1H-benzod[imidazol-5-il]metanona;
 (R)-(3-aminopiperidin-1-il)(2-(1-etil-5-metoxi-1H-pirrol-2,3-b)piridin-2-il)-1-metil-1H-benzod[imidazol-5-il]metanona;
 (R)-(3-aminopiperidin-1-il)(2-(1-etil-5-metoxi-1H-pirrol-2,3-c)piridin-2-il)-1-metil-1H-benzod[imidazol-5-il]metanona;
 65 (R)-(3-aminopiperidin-1-il)(2-(1-etil-5-metoxi-1H-pirrol-2,3-c)piridin-2-il)-1-metil-1H-benzod[imidazol-5-il]metanona;

2-(5-[[*(3R)*-3-amino-1-piperidinil]carbonil]-1-metil-1*H*-bencimidazol-2-il)-1-etil-1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridin-5-ol;
(R)-(3-aminopiperidin-1-il)(2-(1-etil-1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridin-2-il)-7-metoxi-1-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-5-il)metanona;
(R)-(3-aminopiperidin-1-il)(2-(1-(ciclopropilmetil)-1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridin-2-il)-7-metoxi-1-metil-1*H*-
 5 benzo[d]imidazol-5-il)metanona;
(R)-(3-aminopiperidin-1-il)(7-metoxi-1-metil-2-(1-(2,2,2-trifluoroetil)-1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridin-2-il)-1*H*-
 benzo[d]imidazol-5-il)metanona;
 (3-aminopiperidin-1-il)(2-(1-etil-1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridin-2-il)-1-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-5-il)metanona;
 10 *(R)*-(3-aminopiperidin-1-il)(2-(1-etil-1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridin-2-il)-1-metil-7-(trifluorometoxi)-1*H*-benzo[d]imidazol-5-il)metanona;
(R)-(3-aminopiperidin-1-il)(7-metoxi-1-metil-2-(1-neopentil-1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridin-2-il)-1*H*-benzo[d]imidazol-5-il)metanona;
 ((*R*)-3-aminopiperidin-1-il)(7-metoxi-1-metil-2-(1-(2-metilbutil)-1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridin-2-il)-1*H*-benzo[d]imidazol-5-il)metanona, y;
 15 *(R)*-(3-aminopiperidin-1-il)(7-metoxi-2-(1-(2-metoxi-2-metilpropil)-1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridin-2-il)-1-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-5-il)metanona;

y sales de los mismos.

20 En una realización, el compuesto de la invención se selecciona entre la lista que consiste en:

Clorhidrato de *(R)*-(3-aminopiperidin-1-il)(2-(1-etil-1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridin-2-il)-1-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-5-il)metanona;
 clorhidrato *(R)*-(3-aminopiperidin-1-il)(1-metil-2-(1-(2,2,2-trifluoroetil)-1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridin-2-il)-1*H*-
 25 benzo[d]imidazol-5-il)metanona;
(R)-(3-aminopiperidin-1-il)(2-(1-(ciclopropilmetil)-1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridin-2-il)-1-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-5-il)metanona, clorhidrato;
(R)-(3-aminopiperidin-1-il)(2-(1-etil-1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridin-2-il)-7-metoxi-1-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-5-il)metanona, clorhidrato;
 30 *(R)*-(3-aminopiperidin-1-il)(2-(1-(ciclopropilmetil)-1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridin-2-il)-7-metoxi-1-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-5-il)metanona, clorhidrato;
(R)-(3-aminopiperidin-1-il)(7-metoxi-1-metil-2-(1-(2,2,2-trifluoroetil)-1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridin-2-il)-1*H*-benzo[d]imidazol-5-il)metanona, clorhidrato;
 ((3*S*,4*R*)-3-amino-4-hidroxipiperidin-1-il)(2-(1-(ciclopropilmetil)-1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridin-2-il)-1-metil-1*H*-
 35 benzo[d]imidazol-5-il)metanona, clorhidrato;
 ((3*S*,4*R*)-3-amino-4-hidroxipiperidin-1-il)(2-(1-(ciclopropilmetil)-1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridin-2-il)-7-metoxi-1-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-5-il)metanona, clorhidrato;
(R)-(3-aminopiperidin-1-il)(2-(1-etil-1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridin-2-il)-7-metoxi-1-(2-metoxietil)-1*H*-benzo[d]imidazol-5-il)metanona, clorhidrato;
 40 *(S)*-(3-aminopiperidin-1-il)(2-(1-etil-1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridin-2-il)-7-metoxi-1-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-5-il)metanona, clorhidrato;
(R)-(3-aminopiperidin-1-il)(2-(1-etil-1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridin-2-il)-1-isobutil-7-metoxi-1*H*-benzo[d]imidazol-5-il)metanona, clorhidrato;
(R)-(3-aminopiperidin-1-il)(2-(1-isobutil-1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridin-2-il)-7-metoxi-1-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-5-il)metanona, clorhidrato;
 45 ((2*R*,5*S*)-5-amino-2-metilpiperidin-1-il)(2-(1-(ciclopropilmetil)-1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridin-2-il)-7-metoxi-1-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-5-il)metanona, clorhidrato, y;
 ((2*R*,5*S*)-5-amino-2-metilpiperidin-1-il)(2-(1-(ciclopropilmetil)-1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridin-2-il)-7-metoxi-1-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-5-il)metanona, clorhidrato.

50 En una realización, el compuesto de la invención se selecciona entre la lista que consiste en:

((3*S*,4*R*)-3-amino-4-hidroxipiperidin-1-il)(2-(1-(ciclopropilmetil)-1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridin-2-il)-1-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-5-il)metanona;
 55 ((3*S*,4*R*)-3-amino-4-hidroxipiperidin-1-il)(2-(1-(ciclopropilmetil)-1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridin-2-il)-7-metoxi-1-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-5-il)metanona;
(R)-(3-aminopiperidin-1-il)(2-(1-etil-1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridin-2-il)-7-metoxi-1-(2-metoxietil)-1*H*-benzo[d]imidazol-5-il)metanona;
 60 *(S)*-(3-aminopiperidin-1-il)(2-(1-etil-1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridin-2-il)-7-metoxi-1-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-5-il)metanona;
(R)-(3-aminopiperidin-1-il)(2-(1-etil-1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridin-2-il)-1-isobutil-7-metoxi-1*H*-benzo[d]imidazol-5-il)metanona;
(R)-(3-aminopiperidin-1-il)(2-(1-isobutil-1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridin-2-il)-7-metoxi-1-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-5-il)metanona;
 65 ((2*R*,5*S*)-5-amino-2-metilpiperidin-1-il)(2-(1-(ciclopropilmetil)-1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridin-2-il)-7-metoxi-1-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-5-il)metanona, y;

((2R,5S)-5-amino-2-metilpiperidin-1-il)(2-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-7-metoxi-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona;

y sales de los mismos.

5

En una realización, el compuesto de la invención se selecciona entre la lista que consiste en:

(R)-(3-aminopiperidin-1-il)(2-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona;

10

(R)-(3-aminopiperidin-1-il)(2-(1-etil-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-7-metoxi-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona;

(R)-(3-aminopiperidin-1-il)(2-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-7-metoxi-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona;

15

(R)-(3-aminopiperidin-1-il)(7-metoxi-1-metil-2-(1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona, y;

((3S,4R)-3-amino-4-hidroxipiperidin-1-il)(2-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-7-metoxi-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona;

y sales de los mismos.

20

En una realización, el compuesto de la invención se selecciona entre la lista que consiste en:

(R)-(3-aminopiperidin-1-il)(2-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona, clorhidrato;

25

(R)-(3-aminopiperidin-1-il)(2-(1-etil-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-7-metoxi-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona, clorhidrato;

(R)-(3-aminopiperidin-1-il)(2-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-7-metoxi-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona, clorhidrato;

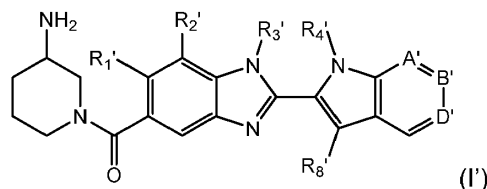
30

(R)-(3-aminopiperidin-1-il)(7-metoxi-1-metil-2-(1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona, clorhidrato, y;

((3S,4R)-3-amino-4-hidroxipiperidin-1-il)(2-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-7-metoxi-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona, clorhidrato.

Se proporciona adicionalmente un subconjunto de compuestos de fórmula (I), que es de fórmula (I')

35



en la que;

40

R₁' es hidrógeno o alquilo C₁₋₆;

R₂' es hidrógeno, alquilo C₁₋₆, o alcoxi C₁₋₆;

R₃' es hidrógeno o alquilo C₁₋₆;

R₄' es hidrógeno, alquilo C₁₋₆, perhalometilalquilo C₁₋₆; o cicloalquil C₃₋₆-alquilo C₁₋₆ sin sustituir;

A' es C-R₅' o N;

45

B' es C-R₆' o N;

D' es C-R₇' o N;

con la condición de que al menos uno de A', B' y D', sea N;

R₅' es hidrógeno o alquilo C₁₋₆;

R₆' es hidrógeno o alquilo C₁₋₆;

50

R₇' es hidrógeno, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, o hidroxilo;

R₈' es hidrógeno o alquilo C₁₋₆, con la condición de que uno de R₄ y R₈' sea hidrógeno;

y sales de los mismos.

55

Se entenderá que las referencias en el presente documento a compuestos de fórmula (I) se aplican igualmente a compuestos de fórmula (I'), por ejemplo métodos de preparación, composiciones y métodos de uso.

Términos y definiciones

60

Los compuestos de Fórmula (I) y sales de los mismos, se denominan en lo sucesivo en el presente documento como

"Compuestos de la invención".

"Alquilo" se refiere a una cadena hidrocarburo saturada que tiene el número especificado de átomos de carbono. Por ejemplo, alquilo C₁₋₆ se refiere a un grupo alquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, por ejemplo, de 1 a 2 átomos de carbono. Los grupos alquilo pueden ser lineales o ramificados. Los grupos alquilo ramificados representativos tienen una, dos o tres ramificaciones. "Alquilo" incluye metilo y etilo.

"Alcoxi" se refiere a una cadena hidrocarburo saturada que tiene el número especificado de átomos de carbono unida por un enlace sencillo a un átomo de oxígeno. Por ejemplo, alcoxi C₁₋₆ se refiere a un grupo alcoxi que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, por ejemplo, de 1 a 2 átomos de carbono, por ejemplo 1 átomo de carbono. Los grupos alcoxi pueden ser lineales o ramificados. Los grupos alcoxi ramificados representativos tienen una, dos o tres ramificaciones. "Alcoxi" incluye metoxi.

"Cicloalquilo" se refiere a un anillo hidrocarburo saturado que tiene el número especificado de átomos miembros. Por ejemplo, cicloalquilo C₃₋₆ se refiere a un grupo cicloalquilo que tiene de 3 a 6 átomos miembros, por ejemplo 3 átomos miembros. "Cicloalquilo" incluye ciclopropilo.

"Exceso enantiomérico" (e.e.) es el exceso de un enantiómero sobre el otro expresado como un porcentaje. En una modificación racémica, ya que ambos enantiómeros están presentes en cantidades iguales, el exceso enantiomérico es cero (0 % de e.e.). Sin embargo, si un enantiómero se enriqueció de tal forma que constituye el 95 % del producto, entonces el exceso enantiomérico será del 90 % de e.e. (la cantidad del enantiómero enriquecido, 95 %, menos la cantidad del otro enantiómero, 5 %).

"Enantioméricamente enriquecido" se refiere a productos cuyo exceso enantiomérico (e.e.) es mayor de cero. Por ejemplo, "enantioméricamente enriquecido" se refiere a productos cuyo exceso enantiomérico es mayor del 50 % de e.e., mayor del 75 % de e.e., y mayor del 90 % de e.e.

"Enantioméricamente puro" se refiere a productos cuyo exceso enantiomérico es del 99 % o más.

"Semivida" (o "semividas") se refiere al tiempo requerido para la mitad de una cantidad de una sustancia que se va a convertir en otra especie químicamente distinta *in vitro* o *in vivo*.

"Halo" se refiere a un radical halógeno, por ejemplo, flúor, cloro, bromo o yodo, por ejemplo bromo, cloro o flúor.

"Perhalometilo" se refiere a un grupo metilo en el que todos los átomos de hidrógeno se han reemplazado con un radical halógeno. Un ejemplo de perhalometilo es perfluorometilo es decir CF₃-.

"Heterocíclico" y "heteroarilo" se refieren a anillos alifáticos monocíclicos saturados o insaturados que contienen 5, 6, o 7 miembros en el anillo, incluyendo 1 o 2 heteroátomos, o a anillos alifáticos bicíclicos saturados o insaturados que contienen 6, 7 o 8 miembros en el anillo, incluyendo 1 o 2 heteroátomos. En ciertas realizaciones, los "grupos heterocíclico" están saturados. En otras realizaciones, los grupos "heterocíclico" están insaturados. Los grupos "heterocíclico" que contienen más de un heteroátomo pueden contener diferentes heteroátomos. Los grupos "heterocíclico" pueden estar sustituidos con uno o más sustituyentes como se define en el presente documento. "Heterocíclico" incluye piperidinilo.

"Heteroarilo" se refiere a anillos aromáticos que contienen de 1 a 3 heteroátomos como átomos miembros en el anillo. Los grupos "heteroarilo" que contienen más de un heteroátomo pueden contener diferentes heteroátomos. Los grupos "heteroarilo" pueden estar sustituidos con uno o más sustituyentes si así se define en el presente documento. Los anillos "heteroarilo" tienen 5 o 6 átomos miembros. "Heteroarilo" incluye pirrolopiridinilo y bencimidazolilo.

"Heteroátomo" se refiere a un átomo de nitrógeno, azufre u oxígeno, por ejemplo un átomo de nitrógeno.

"Átomos miembros" se refiere al átomo o átomos que forman una cadena o anillo. Cuando está presente más de un átomo miembro en una cadena o en un anillo, cada átomo miembro está unido covalentemente a un átomo miembro adyacente en la cadena o el anillo. Los átomos que constituyen un grupo de sustituyentes en una cadena o anillo no son átomos miembros en la cadena o anillo.

"Sustituido" en referencia a un grupo indica que se reemplaza un átomo de hidrógeno unido a un átomo miembro en un grupo. Ha de apreciarse que el término "sustituido" incluye la condición implícita de que la sustitución sea de acuerdo con la valencia permitida del átomo sustituido y el sustituyente y que la sustitución dé como resultado un compuesto estable (es decir, uno que no experimente espontáneamente una transformación, tal como transposición, ciclación o eliminación). En ciertas realizaciones, un átomo individual puede estar sustituido con más de un sustituyente siempre que dicha sustitución sea de acuerdo con la valencia permitida del átomo. Los sustituyentes adecuados se definen en el presente documento para cada grupo sustituido u opcionalmente sustituido.

"Farmacéuticamente aceptable" se refiere a aquellos compuestos, materiales, composiciones y formas de dosificación que son, dentro del alcance del criterio médico, adecuados para su uso en contacto con los tejidos de

seres humanos y animales sin excesiva toxicidad, irritación u otro problema o complicación, compatible con una relación beneficio/riesgo razonable.

- 5 A lo largo de toda la descripción y las reivindicaciones que siguen, a menos que el contexto requiera otra cosa, la palabra "comprende", y variaciones tales como "comprende" y "que comprende", se entenderá que implican la inclusión de un número entero indicado o etapa o grupo de números enteros, pero no la exclusión de ningún otro número entero o etapa o grupo de números enteros o etapas.

- 10 Como se usa en el presente documento, los símbolos y convenciones que se usan en estos procesos, esquemas y ejemplos son coherentes con los usados en la bibliografía científica contemporánea, por ejemplo, el *Journal of the American Chemical Society*. A menos que se indique otra cosa, todos los materiales de partida se obtuvieron a partir de proveedores comerciales y se usan sin purificación adicional. Específicamente, las siguientes abreviaturas pueden usarse en los ejemplos y a lo largo de toda la memoria descriptiva:

15 Abreviaturas

AcOH	Ácido acético
BH ₃ -THF	Complejo de borano tetrahidrofurano
BOC/Boc	<i>tert</i> -Butoxicarbonilo
BOC ₂ O	Dicarbonato de di- <i>tert</i> -butilo
nBuLi	n-Butil litio
BuOH	Butanol
cHex	Ciclohexano
Cs ₂ CO ₃	Carbonato de cesio
VC	Volúmenes de columna
DCM/CH ₂ Cl ₂	Diclorometano
Dioxano	1,4-dioxano
DIPEA	<i>N</i> , <i>N</i> -diisopropiletilamina
DMSO	Dimetilsulfóxico
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamida
Et ₃ N	Trietilamina
Éter	Éter dietílico
EtOAc	Acetato de etilo
GC	Cromatografía de gases
h	Horas
HATU	Hexafluorofosfato de o-(7-azabenzotriazol-1-il)- <i>N,N,N',N'</i> -tetrametiluronio
HPLC	Cromatografía líquida de alto rendimiento
K ₂ CO ₃	Carbonato potásico
KOH	Hidróxido potásico
LiCl	Cloruro de litio
LiOH	Hidróxido de litio
LCMS o LC/MS	Cromatografía líquida - espectroscopía de masas
MDAP	Cromatografía preparativa automatizada dirigida a masas
MeOH	Metanol
MeNH ₂	Metilamina
min	Minutos
Na ₂ SO ₄	Sulfato sódico
NaHCO ₃	Bicarbonato sódico
NH ₄ Cl	Cloruro de amonio
NMP	1-Metil-2-pirrolidinona
Pd/C	Paladio sobre carbono
PE	Éter de petróleo
fr	fondo redondo (matraz)
t.a./ta	Temperatura ambiente
Tr	Tiempo de retención
SNAP	Cartucho de cromatografía ultrarrápida Biotage™
SP4	Sistema de purificación ultrarrápida Biotage™
TFA	Ácido trifluoroacético
THF/thf	Tetrahidrofurano
TLC/tlc	Cromatografía de cada fina
TMEDA	Tetrametiletilendiamina

Se incluyen dentro del alcance de los "compuestos de la invención" todos los solvatos (incluyendo hidratos), polimorfos, derivados radiomarcados, y estereoisómeros de los compuestos de fórmula (I) y sales de los mismos.

Los compuestos de la invención pueden existir en forma sólida o líquida. En el estado sólido, los compuestos de la

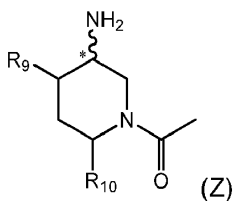
invención pueden existir en forma cristalina o no cristalina, o en forma de una mezcla de los mismos. Para los compuestos de la invención que están en forma cristalina, el experto apreciará que pueden formarse solvatos farmacéuticamente aceptables, en donde las moléculas de disolvente se incorporan en la estructura cristalina durante la cristalización. Los disolventes pueden implicar disolventes no acuosos tales como etanol, alcohol iso-

propílico, N,N-dimetilsulfóxido (DMSO), ácido acético, etanolamina y acetato de etilo, o pueden implicar agua como disolvente que se incorpora en la estructura cristalina. Los solvatos, en donde el agua es el disolvente que se incorpora en la estructura cristalina se denominan normalmente como "hidratos". Los hidratos incluyen hidratos estequiométricos, así como composiciones que contienen cantidades variables de agua. La invención incluye todos estos solvatos.

Se apreciará adicionalmente que ciertos compuestos de la invención que existen en forma cristalina, incluyendo los diversos solvatos de los mismos, pueden mostrar polimorfismo (es decir, la capacidad de producirse en diferentes estructuras cristalinas). Estas diferentes formas cristalinas se conocen normalmente como "polimorfos". La invención incluye todos estos polimorfos. Los polimorfos tienen la misma composición pero difieren en empaquetamiento, disposición geométrica, y otras propiedades descriptivas del estado sólido cristalino. Por lo tanto, los polimorfos pueden tener diferentes propiedades físicas, tales como forma, densidad, dureza, deformabilidad, estabilidad y propiedades de disolución. Los polimorfos muestran normalmente diferentes puntos de fusión, espectros IR, y patrones de difracción de polvo de rayos X, que pueden usarse para la identificación. Se apreciará que pueden producirse diferentes polimorfos, por ejemplo, cambiando o ajustando las condiciones de reacción o reactivos, que se usan en la elaboración del compuesto. Por ejemplo, los cambios de temperatura, presión o el disolvente pueden dar como resultado polimorfos. Además, un polimorfo puede convertirse espontáneamente en otro polimorfo en ciertas condiciones.

La invención también incluye compuestos marcados con isótopos, que son idénticos a los compuestos de fórmula (I) y sales de los mismos, pero, en donde uno o más átomos se reemplazan por un átomo que tiene una masa atómica o número másico diferente de la masa atómica o número másico más comúnmente encontrado en la naturaleza. Los ejemplos de isótopos que pueden incorporarse en los compuestos de la invención incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno y flúor, tales como ^3H , ^{11}C , ^{14}C y ^{18}F .

Los compuestos de acuerdo con la fórmula (I) contienen uno o más centros asimétricos (también denominados como centros quirales) y, por lo tanto, pueden existir como enantiómeros individual, diastereoisómeros, u otras formas estereoisoméricas, o como mezclas de los mismos. También pueden estar presentes centros quirales, tales como átomos de carbono quirales, en un sustituyente tal como un grupo alquilo. Cuando la estereoquímica de un centro quiral presente en la fórmula (I), o en cualquier estructura química ilustrada en el presente documento, no se especifica, la estructura pretende incluir cualquier estereoisómero y todas las mezclas de los mismos. Por lo tanto, pueden usarse compuestos de acuerdo con la fórmula (I) que contienen uno o más centros quirales como modificaciones racémicas, incluyendo mezclas racémicas y racematos, mezclas enriquecidas enantioméricamente, o como estereoisómeros individuales enantioméricamente puros. Por ejemplo, el fragmento (Z) de los compuestos de la fórmula (I) ilustrada a continuación:



contiene un centro quiral en la unión del grupo amino con el anillo (marcado con un asterisco (*)). La estereoquímica en este centro quiral puede ser R, S, RS, o cualquier mezcla de estereoisómeros R y S.

Los estereoisómeros individuales de un compuesto de acuerdo con la fórmula (I) que contienen uno o más centros asimétricos pueden resolverse por métodos conocidos por los expertos en la técnica. Por ejemplo, dicha resolución puede realizarse (1) por la formación de sales diastereoisoméricas, complejos u otros derivados; (2) por la reacción selectiva con un reactivo específico de estereoisómeros, por ejemplo, por oxidación o reducción enzimática; o (3) por cromatografía de gas-líquida o líquida en un entorno quiral, por ejemplo, en un soporte quiral, tal como sílice con un ligando quiral unido o en presencia de un disolvente quiral. Se apreciará que cuando el estereoisómero deseado se convierte en otra entidad química por uno de los procedimientos de separación que se han descrito anteriormente, se requiere una etapa adicional para liberar la forma deseada. Como alternativa, los estereoisómeros específicos pueden sintetizarse por síntesis asimétrica usando reactivos ópticamente activos, sustratos, catalizadores o disolventes, o convirtiendo un enantiómero en el otro por transformación asimétrica.

Debe apreciarse que las referencias en el presente documento a compuestos de fórmula (I) y sales de los mismos incluyen los compuestos de fórmula (I) en forma de las bases libres, o como sales de los mismos, por ejemplo como sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. Por lo tanto, en una realización, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I) en forma de la base libre. En otra realización, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I) y sales de los mismos. En una realización más, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I) y sales

farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Se apreciará que pueden prepararse sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de acuerdo con la fórmula (I). De hecho, en ciertas realizaciones de la invención, pueden preferirse sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de acuerdo con la fórmula (I) sobre la base libre respectiva porque dichas sales imparten mayor estabilidad o solubilidad a la molécula, facilitando de esta manera la formulación en una forma de dosificación. Por consiguiente, la invención está dirigida adicionalmente a compuestos de fórmula (I) y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Como se usa en el presente documento, la expresión "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a sales que conservan la actividad biológica deseada del compuesto objeto y muestran efectos toxicológicos no deseados mínimos. Estas sales farmacéuticamente aceptables pueden prepararse *in situ* durante el aislamiento final y la purificación del compuesto, o haciendo reaccionar por separado el compuesto purificado en su forma de base libre con un ácido adecuado.

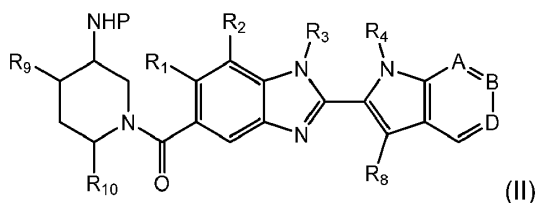
Las sales y solvatos que tienen contraiones no farmacéuticamente aceptables o disolventes asociados, están dentro del alcance de la presente invención, por ejemplo, para su uso como intermedios en la preparación de otros compuestos de fórmula (I) y sus sales farmacéuticamente aceptables. Por lo tanto, una realización de la invención incluye compuestos de fórmula (I) y sales de los mismos.

Los compuestos de acuerdo con la fórmula (I) contienen un grupo funcional básico y, por lo tanto, son capaces de formar sales de adición de ácidos farmacéuticamente aceptables por tratamiento con un ácido adecuado. Los ácidos adecuados incluyen ácidos inorgánicos farmacéuticamente aceptables y ácidos orgánicos farmacéuticamente aceptables. Las sales de adición de ácidos farmacéuticamente aceptables representativas incluyen clorhidrato, bromhidrato, nitrato, metilnitrato, sulfato, bisulfato, sulfamato, fosfato, acetato, hidroxiacetato, fenilacetato, propionato, butirato, *iso*-butirato, valerato, maleato, hidroximaleato, acrilato, fumarato, malato, tartrato, citrato, salicilato, *p*-aminosalicilato, glicolato, lactato, heptanoato, ftalato, oxalato, succinato, benzoato, *o*-acetoxibenzoato, clorobenzoato, metilbenzoato, dinitrobenzoato, hidroxibenzoato, metoxibenzoato, naftoato, hidroxinaftoato, mandelato, tanato, formiato, estearato, ascorbato, palmitato, oleato, piruvato, pamoato, malonato, laurato, glutarato, glutamato, estolato, metanosulfonato (mesilato), etanosulfonato (esilato), 2-hidroxietanosulfonato, bencenosulfonato (besilato), *p*-aminobencenosulfonato, *p*-toluenosulfonato (tosilato) y naftaleno-2-sulfonato.

Preparación del compuesto

Los compuestos de la invención pueden elaborarse mediante diversos métodos, incluyendo la química convencional. Cualquier variable que se ha definido previamente continuará teniendo el significado que se ha definido previamente, a menos que se indique otra cosa. Se exponen métodos de síntesis generales ilustrativos en los siguientes esquemas, y pueden adaptarse fácilmente para preparar otros compuestos de la invención. Los compuestos específicos de la invención se preparan en la sección Ejemplos.

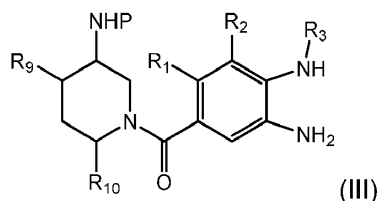
Un compuesto de fórmula (I) puede prepararse por desprotección de un compuesto de fórmula (II). Por consiguiente, en un primer aspecto, se proporciona un proceso para la preparación de un compuesto de fórmula (I) por desprotección de un compuesto de fórmula (II):



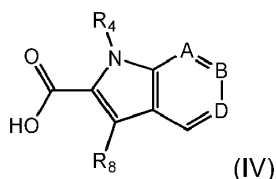
en la que R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , A, B, D, R_8 , R_9 , y R_{10} son como se han definido anteriormente en la presente memoria, y P es un grupo protector adecuado para aminas, por ejemplo *tert*-butoxicarbonilo (Boc), y posteriormente, si se requiere, preparando una sal del compuesto formado de esta manera.

Por ejemplo, a una solución de un compuesto de fórmula (II) en un disolvente adecuado, por ejemplo diclorometano, se le añade ácido trifluoroacético y la reacción se agita a una temperatura adecuada, por ejemplo temperatura ambiente, durante un periodo de tiempo adecuado, por ejemplo 1-3 horas. Después, la mezcla de reacción se concentra a presión reducida. Después, el producto en bruto se disuelve en un disolvente adecuado, por ejemplo metanol, y se carga sobre un cartucho de intercambio iónico, por ejemplo, un cartucho de intercambio catiónico fuerte. Después, el producto se eluye como la base libre con un disolvente adecuado, por ejemplo amoníaco 2 M en metanol y el eluato se concentra a presión reducida para producir un compuesto de fórmula (I).

Un compuesto de fórmula (II) puede prepararse por condensación de un compuesto de fórmula (III):



- 5 en la que R₁, R₂, R₃, R₉, R₁₀, y P son como se han definido anteriormente en la presente memoria, con un compuesto de fórmula (IV)

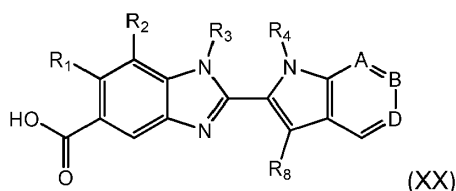


- 10 en la que R₄, A, B, D, y R₈ son como se han definido anteriormente en la presente memoria.

En un aspecto adicional, se proporciona un proceso para la preparación de un compuesto de fórmula (II) por reacción de un compuesto de fórmula (III) con un compuesto de fórmula (IV).

- 15 Por ejemplo, un compuesto de fórmula (IV) y un reactivo de acoplamiento peptídico adecuado, por ejemplo hexafluorofosfato de o-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio (HATU), se disuelven en un disolvente adecuado, por ejemplo, N,N-dimetilformamida y se agitan a una temperatura adecuada, por ejemplo, temperatura ambiente, durante un periodo de tiempo adecuado, por ejemplo, 5-10 minutos. A esto se le añade una solución de un compuesto de fórmula (III), y una base impedida adecuada, por ejemplo N,N-di-iso-propiletilamina (DIPEA), en un
20 disolvente adecuado, por ejemplo N,N-dimetilformamida, y la mezcla resultante se agitó en una atmósfera de nitrógeno a una temperatura adecuada, por ejemplo temperatura ambiente, durante un periodo de tiempo adecuado, por ejemplo 3-5 horas. La mezcla de reacción se diluye con agua y se reparte con un disolvente orgánico adecuado, por ejemplo éter. La capa orgánica se aísla y después la capa acuosa se extrae de nuevo con éter. Las capas orgánicas combinadas se lavan con agua, después se secan sobre sulfato sódico, después se pasan a través de una frita hidrófoba y se concentran a presión reducida para dar el intermedio amida en bruto. El sólido se seca a presión reducida durante 12-24 horas y después se disuelve en un disolvente adecuado, por ejemplo tolueno. A la
25 mezcla de reacción se le añade un ácido orgánico adecuado, por ejemplo ácido acético, y después la mezcla se calienta a reflujo durante un periodo de tiempo adecuado, por ejemplo, que se calentó a reflujo durante 4-6 horas. A la mezcla de reacción se le añade una base acuosa adecuada, por ejemplo una solución de bicarbonato, y la capa orgánica se aísla. La capa acuosa se extrae de nuevo con un disolvente orgánico adecuado, por ejemplo tolueno, y las capas orgánicas combinadas se concentran a presión reducida para dar el producto en bruto. El material en bruto puede purificarse por, por ejemplo, cromatografía en columna.

Un compuesto de fórmula (II) también puede prepararse por reacción de un compuesto de fórmula (XX):

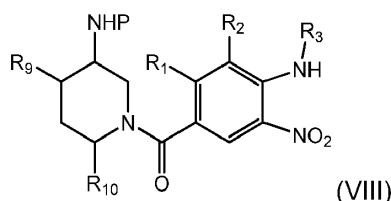


en la que R₁, R₂, R₃, R₄, A, B, D, y R₈ son como se han definido anteriormente en la presente memoria, con un compuesto de fórmula (X) como se define en lo sucesivo en el presente documento.

- 40 Por ejemplo, a una solución de un compuesto de fórmula (XX) en un disolvente adecuado, por ejemplo N,N-dimetilformamida (DMF) se le añade un reactivo de acoplamiento peptídico adecuado, por ejemplo hexafluorofosfato de o-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio (HATU) seguido de una base impedida adecuada, por ejemplo N,N-di-iso-propiletilamina (DIPEA), y la reacción se agitó a una temperatura adecuada, por ejemplo
45 temperatura ambiente, durante un periodo de tiempo adecuado, por ejemplo 15-30 minutos. Se añade un compuesto de fórmula (X) en un disolvente adecuado, por ejemplo DMF y la reacción se agita a una temperatura adecuada, por ejemplo temperatura ambiente, durante un periodo de tiempo adecuado, por ejemplo 3-8 horas. Se añaden agua y un disolvente orgánico adecuado, por ejemplo éter dietílico, y las capas se separan. La capa acuosa se extrae con

disolvente orgánico adicional, por ejemplo, éter dietílico, y las capas orgánicas combinadas se lavan con agua, se secan, por ejemplo usando sulfato sódico anhidro, y se concentran a presión reducida. El producto en bruto puede purificarse, por ejemplo, por cromatografía en columna.

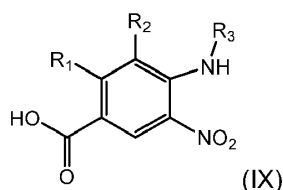
- 5 Un compuesto de fórmula (III) puede prepararse por reducción de un compuesto de fórmula (VIII):



en la que R₁, R₂, R₃, R₉, R₁₀, y P son como se han definido anteriormente en la presente memoria.

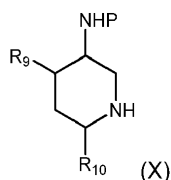
- 10 Por ejemplo, un compuesto de fórmula (VIII) se disuelve en un disolvente adecuado, por ejemplo etanol, y se añade a un matraz de hidrogenación enjuagado que contiene un catalizador adecuado, por ejemplo, paladio sobre carbono. La mezcla resultante se lava abundantemente con nitrógeno/vacío, después se agita en una atmósfera de hidrógeno a una temperatura adecuada, por ejemplo, temperatura ambiente, durante un periodo de tiempo adecuado, por ejemplo 24 horas. Después, la mezcla de reacción se lava abundantemente en la atmósfera de hidrógeno con nitrógeno/vacío. A esta solución, se le añade Celite y la mezcla se agitó durante un periodo de tiempo adecuado, por ejemplo 2-5 minutos, después se filtra a presión reducida. La solución se concentra a presión reducida para dar un producto en bruto que puede purificarse, por ejemplo, por cromatografía.

- 20 Un compuesto de fórmula (VIII) puede prepararse por reacción de un compuesto de fórmula (IX):



en la que R₁, R₂, y R₃ son como se han definido anteriormente en la presente memoria, con un compuesto de fórmula (X):

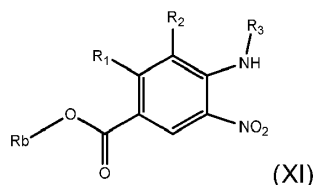
- 25



en la que R₉, R₁₀ y P son como se han definido anteriormente en la presente memoria.

- 30 Por ejemplo, a una solución de un compuesto de fórmula (X), un compuesto de fórmula (IX) y un reactivo de acoplamiento peptídico adecuado, por ejemplo hexafluorofosfato de o-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio (HATU) en un disolvente adecuado, por ejemplo N,N-dimetilformamida, se le añade una base impedida adecuada, por ejemplo N,N-diisopropiletilamina (DIPEA), y la reacción se agita a una temperatura adecuada, por ejemplo temperatura ambiente, durante un periodo de tiempo adecuado, por ejemplo 12-18 horas. Se añaden agua y un disolvente orgánico adecuado, por ejemplo éter dietílico, y las capas se separan. La capa acuosa se extrae con disolvente orgánico adicional, por ejemplo éter dietílico, y las capas orgánicas combinadas se lavan con agua, se secan, por ejemplo sobre sulfato sódico anhidro, y se concentran al vacío. El producto en bruto puede purificarse usando técnicas convencionales, tales como cromatografía.

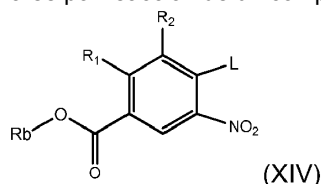
- 40 Un compuesto de fórmula (IX) puede prepararse por hidrólisis de un compuesto de fórmula (XI):



en la que Rb es alquilo C₁₋₆ y R₁, R₂, R₃ son como se han definido anteriormente en la presente memoria.

Por ejemplo, un compuesto de fórmula (XI) se disuelve en un disolvente adecuado, por ejemplo, una relación 1:1 v/v de tetrahidrofurano y agua. A esta solución se le añade una base adecuada, por ejemplo hidróxido de litio, y la reacción se agita a una temperatura adecuada, por ejemplo temperatura ambiente, durante un periodo de tiempo adecuado, por ejemplo 12-18 horas. La mezcla de reacción se enfría a una temperatura adecuada, por ejemplo 0 °C y se acidifica mediante la adición de un ácido mineral acuoso adecuado, por ejemplo, una solución 5 M de HCl, hasta que el pH alcanza aproximadamente 5. La suspensión se filtra y el residuo de producto se lava con agua destilada y se seca.

Un compuesto de fórmula (XI) puede prepararse por reacción de un compuesto de fórmula (XIV):



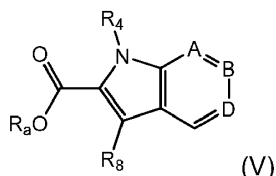
en la que Rb, R₁, y R₂, son como se han definido anteriormente en la presente memoria y L es un grupo saliente adecuado, por ejemplo un grupo halo, por ejemplo cloro, con un compuesto de fórmula (XIII):



en la que R₃ es como se ha definido anteriormente en la presente memoria.

Por ejemplo, un compuesto de fórmula (XIV) se disuelve en un disolvente adecuado, por ejemplo N,N-dimetilformamida (DMF), y se enfría a una temperatura adecuada, por ejemplo, aproximadamente 0 °C en un baño de hielo/agua. Una solución de un compuesto de fórmula (XIII) en un disolvente adecuado, por ejemplo tetrahidrofurano, se añade gota a gota con agitación vigorosa y la mezcla se lava abundantemente con nitrógeno y se calienta a una temperatura adecuada, por ejemplo 70-90 °C durante un periodo de tiempo adecuado, por ejemplo, 3 horas. La mezcla se deja enfriar a una temperatura adecuada, por ejemplo, temperatura ambiente, durante un periodo de tiempo adecuado, por ejemplo, 60-70 horas. La mezcla de reacción se diluye con agua y se filtra a presión reducida para dar un compuesto de fórmula (XI).

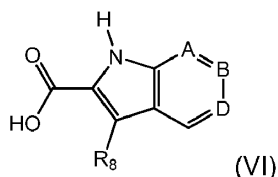
Un compuesto de fórmula (IV), en la que R₄ es distinto de hidrógeno, puede prepararse por hidrólisis de un compuesto de fórmula (V):



en la que R_a es alquilo C₁₋₆, R₄, es distinto de hidrógeno, y A, B, D, y R₈ son como se han definido anteriormente en la presente memoria.

Por ejemplo, a una mezcla de un compuesto de fórmula (V) en un disolvente adecuado, por ejemplo, una mezcla de metanol, tetrahidrofurano (THF) y agua, se le añade una base adecuada, por ejemplo hidróxido de litio monohidrato, y la mezcla se agita a una temperatura adecuada, por ejemplo temperatura ambiente en una atmósfera inerte, por ejemplo, una atmósfera de nitrógeno, durante un periodo de tiempo adecuado, por ejemplo 1-2 horas. La mezcla se concentra a presión reducida, después se trata con un ácido mineral acuoso adecuado, por ejemplo HCl 2 N, y el producto se aísla por filtración.

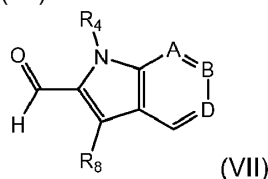
Un compuesto de fórmula (V), en la que R₄ es distinto de hidrógeno, puede prepararse por alquilación de un compuesto de fórmula (IV), en la que R₄ es hidrógeno es decir un compuesto de fórmula (VI):



en la que A, B, D, y R₈ son como se han definido anteriormente en la presente memoria.

Por ejemplo, se añade un disolvente orgánico adecuado, por ejemplo dimetilsulfóxido (DMSO) en un matraz que contiene una base adecuada, por ejemplo, hidróxido potásico, y la mezcla se agita en una atmósfera inerte, por ejemplo, una atmósfera de nitrógeno, durante un periodo de tiempo adecuado, por ejemplo 8-12 minutos. Se añaden un compuesto de fórmula (VI) y un agente de alquilación adecuado, por ejemplo bromoetano, y la mezcla se agita a una temperatura adecuada, por ejemplo temperatura ambiente, en la atmósfera inerte durante un periodo de tiempo adecuado, por ejemplo 18-24 horas. La reacción se interrumpe mediante la adición cuidadosa lenta de agua. Se añade un disolvente orgánico adecuado, por ejemplo, éter dietílico, y la mezcla de reacción se separa en las capas orgánica y acuosa. La capa acuosa se extrae adicionalmente con un disolvente orgánico adecuado, por ejemplo éter dietílico, y las capas orgánicas combinadas se secan, por ejemplo pasando a través de una frita hidrófoba, y se concentran a presión reducida para dar un compuesto de fórmula (V), en la que R_4 es distinto de hidrógeno.

Un compuesto de fórmula (II) también puede prepararse por condensación con un compuesto de fórmula (VII). Por consiguiente, en un aspecto adicional, se proporciona un proceso para la preparación de un compuesto de fórmula (II) por reacción de un compuesto de fórmula (VII):



en la que R_4 , A, B, D, y R_8 , son como se han definido anteriormente en la presente memoria, con un compuesto de fórmula (VIII) como se ha definido anteriormente en el presente documento.

Por ejemplo, a una solución de un compuesto de fórmula (VIII) y un compuesto de fórmula (VII) en un disolvente adecuado, por ejemplo etanol, se le añade en porciones una solución de un agente reductor adecuado, por ejemplo ditionita sódica en un disolvente adecuado, por ejemplo agua. La mezcla se lava abundantemente con, por ejemplo, nitrógeno, y después se calienta a una temperatura adecuada, por ejemplo 100 °C, durante un periodo de tiempo adecuado, por ejemplo 12-18 horas. La mezcla de reacción se concentra al vacío, después se diluye con un disolvente adecuado, por ejemplo diclorometano, y se añade agua. La capa orgánica se recoge y la capa acuosa se lava con más cantidad de disolvente, por ejemplo diclorometano. Las capas orgánicas se combinan, se lavan de nuevo con agua, se recogen, se secan, por ejemplo con sulfato sódico anhidro, se filtran a través de una frita hidrófoba y se concentran al vacío para producir el producto en bruto. El producto en bruto puede purificarse por medios convencionales, por ejemplo cromatografía.

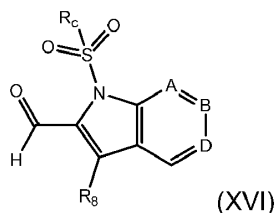
Un compuesto de fórmula (VII), en la que R_4 es distinto de hidrógeno, puede prepararse por reacción de un compuesto de fórmula (VII), en la que R_4 es hidrógeno por reacción con un compuesto de fórmula (XV):



en la que R_4 es como se ha definido anteriormente en la presente memoria y M es un grupo saliente adecuado, por ejemplo un grupo halo, por ejemplo yodo, o un grupo alquilsulfonilo, por ejemplo trifluorometanosulfonilo.

Por ejemplo, a una suspensión de compuesto de fórmula (VII), en la que R_4 es hidrógeno y una base adecuada, por ejemplo carbonato de cesio, en un medio orgánico adecuado, por ejemplo N,N-dimetilformamida, agitado en una atmósfera inerte, por ejemplo una atmósfera de nitrógeno, a una temperatura adecuada, por ejemplo 20 °C, se le añade gota a gota un compuesto de fórmula (XV) durante un periodo de tiempo adecuado, por ejemplo 0,5-1 minuto. La mezcla de reacción se agita a una temperatura adecuada, por ejemplo temperatura ambiente, durante un periodo de tiempo adecuado, por ejemplo 1 hora. La mezcla de reacción se inactiva con agua, se reparte entre un disolvente orgánico adecuado, por ejemplo diclorometano, y agua. La fase acuosa se extrae con un disolvente orgánico adecuado, por ejemplo diclorometano. La fase orgánica se lava con salmuera saturada, se seca sobre, por ejemplo sulfato sódico, y se evapora al vacío para dar el producto en bruto. El producto en bruto puede purificarse por medios convencionales, por ejemplo cromatografía.

Un compuesto de fórmula (VII), en la que R_4 es hidrógeno, puede prepararse por desprotección de un compuesto de fórmula (XVI):

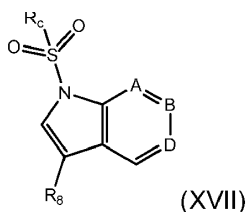


en la que R_c es un grupo arilo, por ejemplo fenilo, y A, B, D, y R_8 son como se han definido anteriormente en la

presente memoria.

Por ejemplo, a una solución de una base adecuada, por ejemplo hidróxido potásico, en un disolvente orgánico adecuado, por ejemplo metanol, agitado a una temperatura adecuada, por ejemplo temperatura ambiente, se le
 5 añade gota a gota una solución de un compuesto de fórmula (XVI) en un disolvente adecuado, por ejemplo metanol, durante un periodo de tiempo adecuado, por ejemplo 0,5-1 minuto. La mezcla se agita a una temperatura adecuada, por ejemplo temperatura ambiente, hasta que el material de partida se consume. Después, la mezcla de reacción se diluye con agua y después se añade un disolvente orgánico adecuado, por ejemplo, diclorometano. El pH se ajusta a
 10 7 con un ácido mineral adecuado, por ejemplo, ácido clorhídrico concentrado, y se extrae con disolvente orgánico adicional, por ejemplo diclorometano. Después, la fase orgánica se lava, se seca, y el disolvente se retira para dar un compuesto de fórmula (VII).

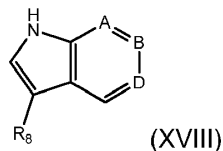
Un compuesto de fórmula (XVI) puede prepararse a partir de un compuesto de fórmula (XVII)



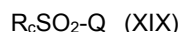
en la que R_c , A, B, D, y R_8 son como se han definido anteriormente en la presente memoria.

Por ejemplo, a una solución de una base orgánica adecuada, por ejemplo diisopropilamina, en un disolvente orgánico anhidro adecuado, por ejemplo tetrahidrofurano anhidro, agitado en una atmósfera inerte, por ejemplo una
 20 atmósfera de nitrógeno, a una temperatura adecuada, por ejemplo -78°C , se le añade una base adecuada, por ejemplo n-butil litio, durante un periodo de tiempo adecuado, por ejemplo 10-20 minutos. La mezcla de reacción se agita a una temperatura adecuada, por ejemplo -78°C durante un periodo de tiempo adecuado, por ejemplo 20-40 minutos, después se calienta a una temperatura adecuada, por ejemplo temperatura ambiente, y se agita durante
 25 un periodo de tiempo adecuado, por ejemplo 45-90 minutos. A esta solución de diisopropilamida de litio en un disolvente anhidro adecuado, por ejemplo tetrahidrofurano anhidro, agitado en una atmósfera inerte, por ejemplo una atmósfera de nitrógeno, a una temperatura adecuada, por ejemplo -30°C , se le añade gota a gota una solución de un compuesto de fórmula (XVII) y una base adecuada, por ejemplo tetrametiletilendiamina en un disolvente orgánico
 30 adecuado, por ejemplo tetrahidrofurano, durante un periodo de tiempo adecuado, por ejemplo 10-20 minutos. La mezcla de reacción se agita a una temperatura adecuada, por ejemplo -30°C , durante un periodo de tiempo adecuado, por ejemplo 2-3 horas, y después se añade gota a gota un disolvente orgánico adecuado, por ejemplo N,N-dimetilformamida, durante un periodo de tiempo adecuado, por ejemplo 1 minuto. La mezcla de reacción se agita a una temperatura adecuada, por ejemplo -30°C durante un periodo de tiempo adecuado adicional, por
 35 ejemplo 1,5-3 horas. La mezcla de reacción se inactiva con agua y se reparte entre un disolvente orgánico adecuado, por ejemplo diclorometano, y agua. La fase orgánica se lava, se seca y se evapora para dar un compuesto en bruto de fórmula (XVI), que puede purificarse por medios convencionales, por ejemplo, recristalización.

Un compuesto de fórmula (XVII) puede prepararse por reacción de un compuesto de fórmula (XVIII):



en la que A, B, D, y R_8 son como se han definido anteriormente en la presente memoria, con un compuesto de
 45 fórmula (XIX):

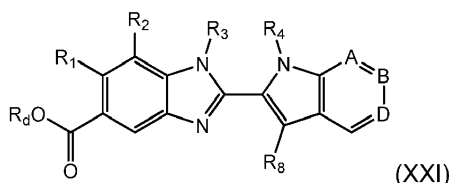


en la que R_c es como se ha definido anteriormente en la presente memoria y Q es un grupo saliente adecuado, por
 50 ejemplo un grupo halo, por ejemplo cloro.

Por ejemplo, a una solución de un compuesto de fórmula (XVIII) en un disolvente orgánico adecuado, por ejemplo tetrahidrofurano, se le añade en porciones una base adecuada, por ejemplo hidruro sódico, durante un periodo de
 tiempo adecuado, por ejemplo 5 minutos, en una atmósfera inerte, por ejemplo una atmósfera de nitrógeno, a una
 55 temperatura adecuada, por ejemplo 0°C . La mezcla de reacción se agita a una temperatura adecuada, por ejemplo 0°C durante un periodo de tiempo adecuado, por ejemplo 30-45 minutos, después se añade gota a gota un

compuesto de fórmula (XIX) en una atmósfera inerte, por ejemplo una atmósfera de nitrógeno, a una temperatura adecuada, por ejemplo 0 °C, después se agita durante un periodo de tiempo adecuado, por ejemplo 1,5-3 horas a una temperatura adecuada, por ejemplo temperatura ambiente, hasta que el material de partida se había consumido completamente. La mezcla se vierte en agua y se extrae con un disolvente orgánico adecuado, por ejemplo acetato de etilo. La fase orgánica se lava, se seca y se evapora para dar un compuesto en bruto de fórmula (XVII), que puede purificarse por medios convencionales, por ejemplo, recristalización.

Un compuesto de fórmula (XX) puede prepararse por hidrólisis de un compuesto de fórmula (XXI):



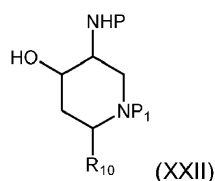
en la que R₁, R₂, R₃, R₄, A, B, D, y R₈ son como se han definido anteriormente en la presente memoria y R_d es un grupo alquilo, por ejemplo alquilo C₁₋₆.

Por ejemplo, un compuesto de fórmula (XXI) se disuelve en un disolvente adecuado, por ejemplo una mezcla de un disolvente orgánico adecuado y agua, por ejemplo, una mezcla de tetrahidrofurano (THF) y agua, por ejemplo en una relación 1:1. A ésta se le añade una base adecuada, por ejemplo hidróxido de litio anhidro, y la reacción se agitó a una temperatura adecuada, por ejemplo temperatura ambiente, durante un periodo de tiempo adecuado, por ejemplo 15-24 horas. Después, la mezcla de reacción se neutraliza mediante la adición de un ácido adecuado, por ejemplo ácido clorhídrico 2 M. La suspensión se filtra y el residuo se lava con agua y se seca al vacío para proporcionar un compuesto de fórmula (XX).

Un compuesto de fórmula (XXI) puede prepararse por reacción de un compuesto de fórmula (VII) como se ha definido anteriormente en el presente documento con un compuesto de fórmula (XI) como se ha definido anteriormente en el presente documento.

Por ejemplo, se añade una solución de un agente reductor adecuado, por ejemplo hidrosulfito sódico, en un disolvente adecuado, por ejemplo, agua, a una suspensión de un compuesto de fórmula (XI) y un compuesto de fórmula (VII) en un medio adecuado, por ejemplo; etanol. La mezcla de reacción se calienta, por ejemplo en un horno microondas, a una temperatura adecuada, por ejemplo, 90-110 °C durante un periodo de tiempo adecuado, por ejemplo 3-6 horas. La mezcla de reacción se diluye con un disolvente adecuado, por ejemplo diclorometano, se seca, por ejemplo usando sulfato sódico anhidro, se filtra y se concentra a presión reducida para proporcionar el producto en bruto. El producto en bruto puede purificarse, por ejemplo, por cromatografía en columna.

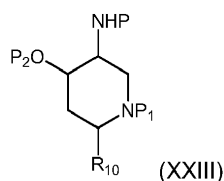
Un compuesto de fórmula (X), en la que R₉ es hidroxilo, puede prepararse por hidrogenólisis de un compuesto de fórmula (XXII):



en la que P y R₁₀ son como se han definido anteriormente en la presente memoria y P₁ es un grupo protector, por ejemplo, un grupo carboxibencilo.

Por ejemplo, una solución de un compuesto de fórmula (XXII) en un disolvente adecuado, por ejemplo etanol, se añade en un matraz de hidrogenación que contiene un catalizador adecuado, por ejemplo paladio al 10 % sobre carbono, en una atmósfera inerte, por ejemplo una atmósfera de nitrógeno. Después, el matraz se evacua y se carga de nuevo con hidrógeno. El sistema se cierra y la mezcla se deja agitar en una atmósfera de hidrógeno durante un periodo de tiempo adecuado, por ejemplo 12-18 horas. La mezcla de reacción se filtra y se lava con un disolvente adecuado, por ejemplo etanol, seguido de un lavado del disolvente adicional con, por ejemplo, acetato de etilo. El filtrado combinado se concentra a presión reducida para proporcionar un compuesto de fórmula (X).

Un compuesto de fórmula (XXII), en la que el grupo -OH y los grupos -NHP son *cis* uno con respecto al otro, puede prepararse por hidrólisis de un compuesto de fórmula (XXIII):



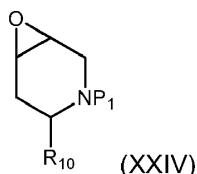
en la que P y P₁, y R₁₀ son como se han definido anteriormente en la presente memoria y P₂ es un grupo protector adecuado, por ejemplo, un grupo benzoilo.

Por ejemplo, se añade una solución de una base adecuada, por ejemplo carbonato potásico en un disolvente adecuado, por ejemplo agua, a una solución de un compuesto de fórmula (XXIII) en un disolvente adecuado, por ejemplo etanol, y la mezcla se agitó a una temperatura adecuada, por ejemplo 60-70 °C durante 18-24 horas. La mezcla de reacción se concentra a presión reducida, se diluye con agua y se extrae usando un disolvente adecuado, por ejemplo diclorometano. Los extractos orgánicos se combinan y se secan usando, por ejemplo sulfato sódico anhidro, y se concentran a presión reducida para proporcionar el compuesto en bruto de fórmula (XXII), en la que el grupo -OH y los grupos -NHP son *cis* uno con respecto al otro. El producto en bruto puede purificarse, por ejemplo, por cromatografía en columna.

Un compuesto de fórmula (XXIII), en la que los grupos P₂O- y -NHP son *cis* uno con respecto al otro, puede prepararse a partir de un compuesto de fórmula (XXII), donde los grupos HO- y -NHP son *trans* uno con respecto al otro, a través de la reacción de Mitsunobu.

Por ejemplo, a una solución de trifetilfosfina en un disolvente adecuado, por ejemplo tetrahidrofurano, se le añade azodicarboxilato de di-*iso*-propilo, y la mezcla se agitó a una temperatura adecuada, por ejemplo en un baño de hielo-agua durante un periodo de tiempo adecuado, por ejemplo 10-15 minutos, y después se deja calentar a temperatura ambiente. Se añade compuesto de fórmula (XXII), donde los grupos HO- y -NHP son *trans* uno con respecto al otro en un disolvente adecuado, por ejemplo tetrahidrofurano, seguido de un ácido adecuado, por ejemplo ácido benzoico. La reacción se agita a una temperatura adecuada, por ejemplo temperatura ambiente, durante un periodo de tiempo adecuado, por ejemplo 18-24 horas. Después, la mezcla de reacción se concentra, por ejemplo a presión reducida. Después, el producto en bruto se purifica usando, por ejemplo, cromatografía en columna.

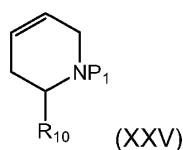
Un compuesto de fórmula (XXII), en la que el grupo -OH y los grupos -NHP son *trans* uno con respecto al otro, puede prepararse por hidrólisis de un compuesto de fórmula (XXIV):



en la que P₁ y R₁₀ son como se han definido anteriormente en la presente memoria.

Una solución de un compuesto de fórmula (XIV) en una mezcla de disolvente básico adecuado, por ejemplo una mezcla de una solución acuosa de hidróxido de amonio y un disolvente orgánico adecuado, por ejemplo etanol, se agita a una temperatura adecuada, por ejemplo 60-80 °C durante un periodo de tiempo adecuado, por ejemplo 4-6 horas. La mezcla de reacción se concentra a presión reducida, se diluye con salmuera, y la capa orgánica se extrae en un disolvente adecuado, por ejemplo diclorometano. Las capas orgánicas combinadas se secan usando, por ejemplo sulfato sódico anhidro, y se concentran a presión reducida para dar la amina primaria del intermedio. El residuo se diluye con un disolvente adecuado, por ejemplo diclorometano y una base adecuada, por ejemplo trietilamina, y el precursor para dar un grupo protector adecuado, por ejemplo dicarbonato de di-*tert*-butilo. La reacción se deja en agitación durante un periodo de tiempo adecuado, por ejemplo 1-3 horas, se interrumpe con, por ejemplo, una solución acuosa saturada de cloruro de amonio, y las capas se separan. Las capas orgánicas combinadas se secan usando, por ejemplo, una frita hidrófoba y el disolvente se retira a presión reducida para producir un compuesto de fórmula (XXII), en la que el grupo -OH y los grupos -NHP son *trans* uno con respecto al otro.

Un compuesto de fórmula (XXIV) puede prepararse por reacción de un perácido adecuado, por ejemplo ácido 3-clorobenzoperoxoico, con un compuesto de fórmula (XXV):



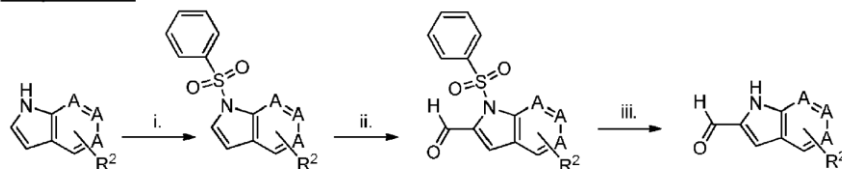
en la que P_1 y R_{10} son como se han definido anteriormente en la presente memoria.

- 5 Por ejemplo, un perácido adecuado, por ejemplo ácido 3-clorobenzoperoxoico, se añade en porciones en una atmósfera inerte, por ejemplo una atmósfera de nitrógeno, a una solución agitada de un compuesto de fórmula (XXV) (disponible, por ejemplo, en Fluorochem, Hadfield, Derbyshire, Reino Unido) en un disolvente anhidro adecuado, por ejemplo diclorometano anhidro, en refrigeración, por ejemplo usando un baño de hielo. La mezcla resultante se deja alcanzar la temperatura ambiente y se agita durante un periodo de tiempo adecuado, por ejemplo
- 10 12-24 horas. A la mezcla de reacción se le añade agua y las capas se reparten. La capa orgánica se añade a una solución agitada de un agente reductor, por ejemplo, una solución acuosa de metabisulfito sódico, para destruir el exceso de perácido. Las capas se separan y la capa acuosa se lava con un disolvente adecuado, por ejemplo diclorometano. Después, las capas orgánicas combinadas se secan, por ejemplo usando sulfato sódico anhidro, y se concentran a presión reducida para proporcionar el producto en bruto, que puede purificarse por cromatografía.

15

Las preparaciones de compuestos de fórmula (I) se resumen en los siguientes esquemas de síntesis:

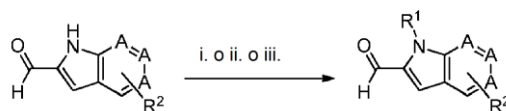
Esquema 1



i. NaH, PhSO_2Cl , DMF; ii. $n\text{BuLi}$ / $i\text{Pr}_2\text{NH}$, DMF, TMEDA, THF; iii. KOH / MeOH

donde A = C, CH o N, con la condición de que al menos un A sea N.

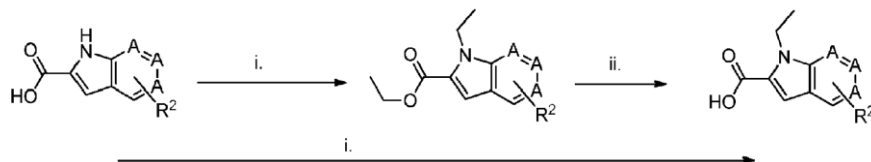
Esquema 2



i. NaH, R^1X , DMF; ii. M_2CO_3 , R^1X , DMF; iii. KOH, R^1X , DMSO.

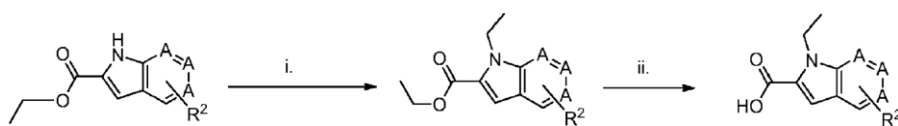
20

Esquema 3



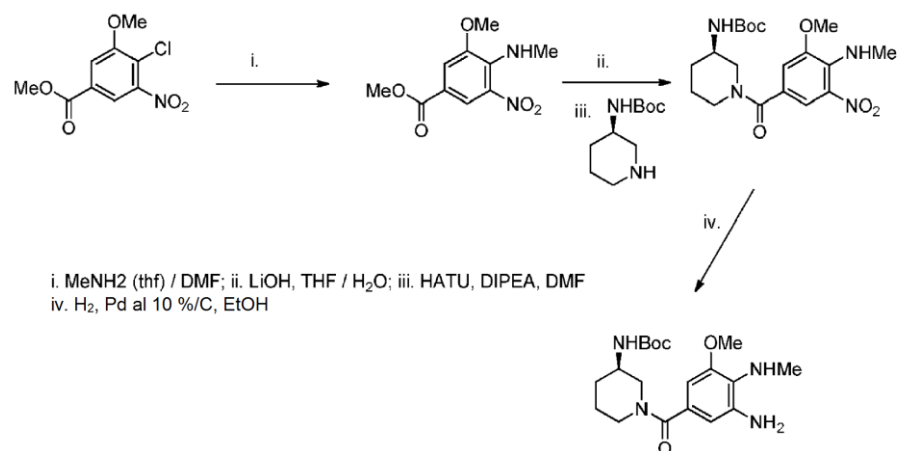
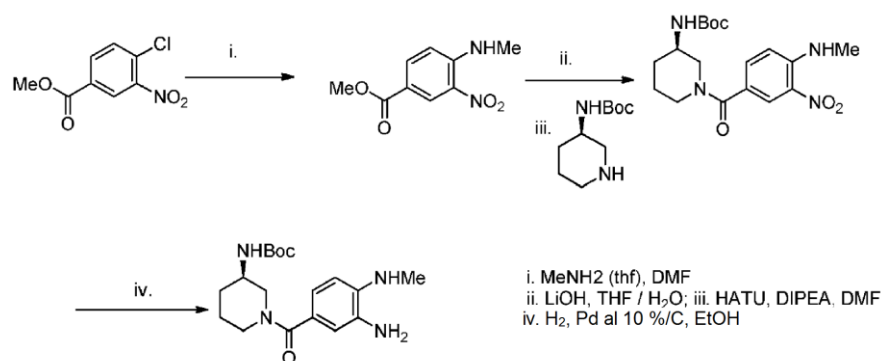
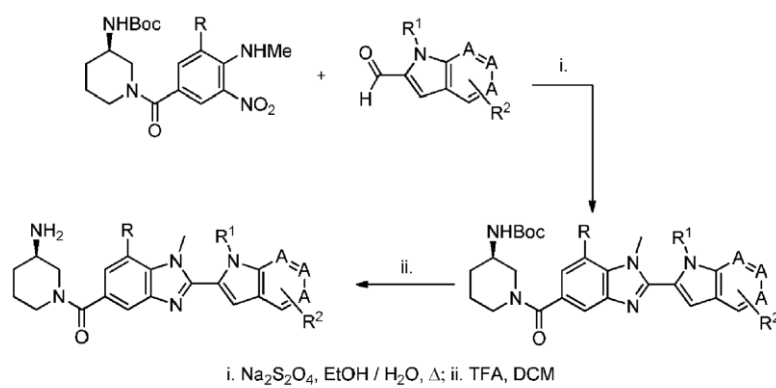
i. KOH, EtBr, DMSO; ii. LiOH ac., MeOH, thf

Esquema 4

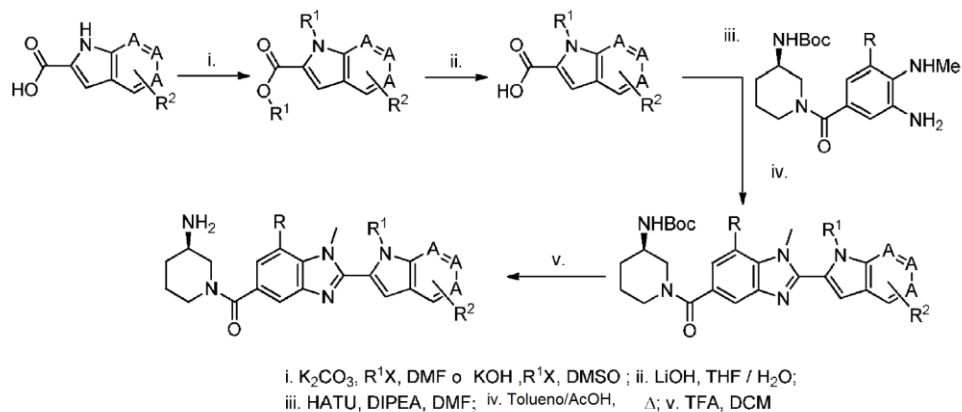


i. KOH, EtBr, DMSO; ii. LiOH ac., MeOH, thf

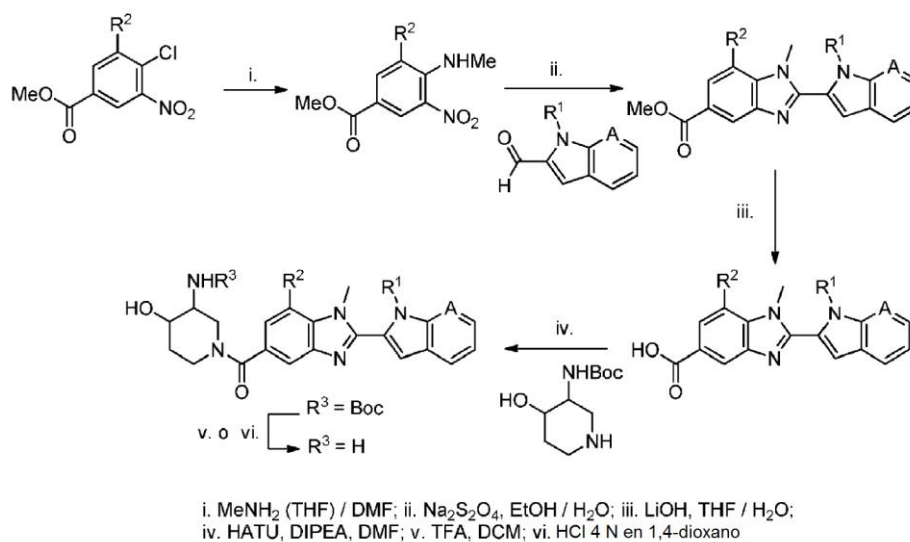
25

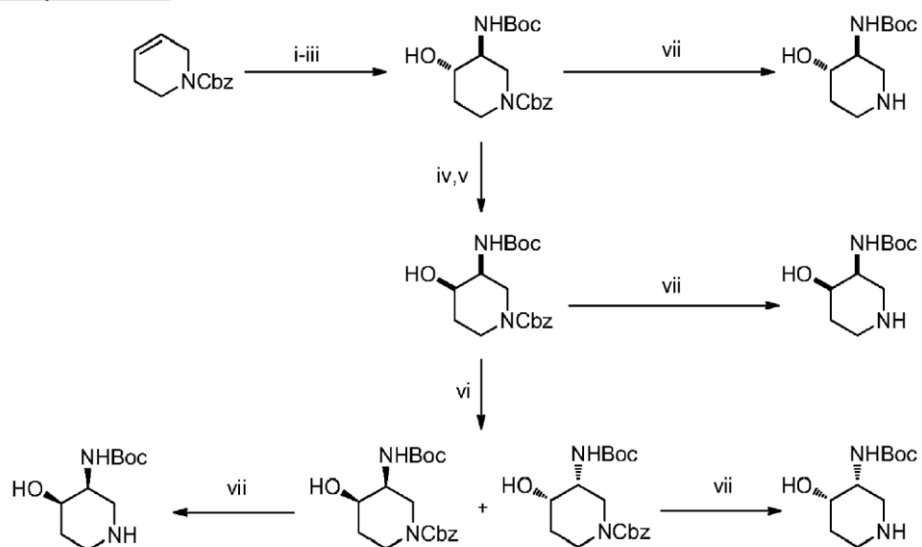
Esquema 5Esquema 6Esquema 7

Esquema 8

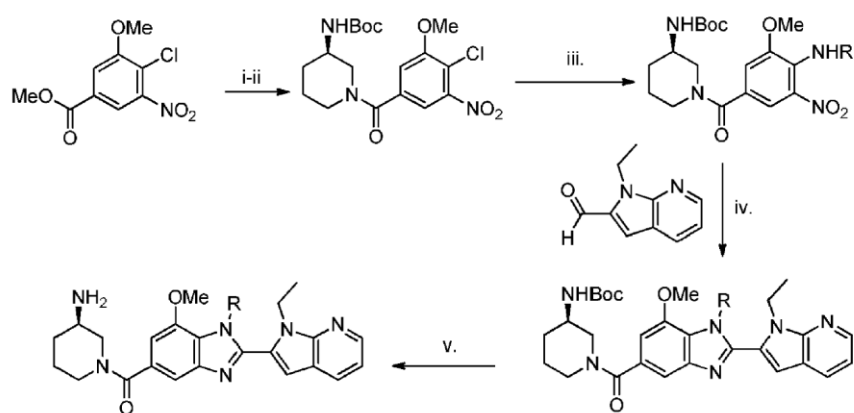


Esquema 9



Esquema 10

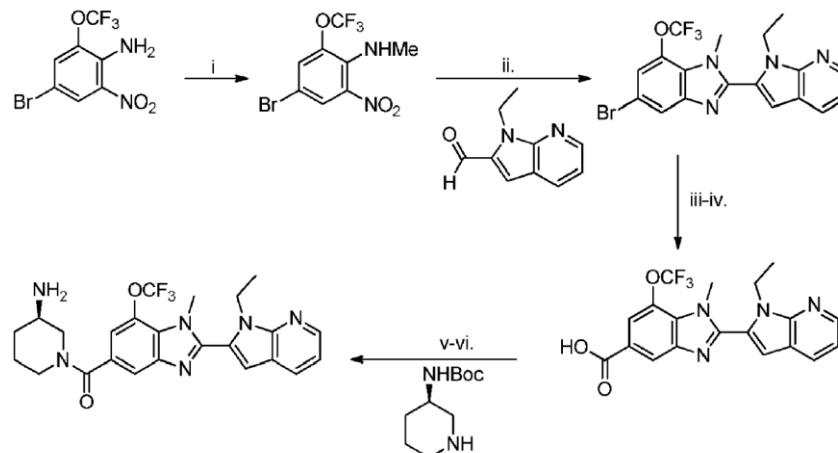
i. mCPBA; ii. $\text{NH}_4\text{OH}(\text{aq})$; iii. Boc_2O ; iv. Ácido benzoico, DIAD, PPh_3 ;
v. K_2CO_3 , $\text{EtOH}/\text{H}_2\text{O}$; vi. HPLC prep. quiral; vii. H_2 , Pd/C , EtOH

Esquema 11

i. LiOH , $\text{THF} / \text{H}_2\text{O}$; ii. HATU, DIPEA, DMF; iii. RNH_2 , DMF; iv. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$, $\text{EtOH} / \text{H}_2\text{O}$; v. TFA, DCM.

donde $\text{R} = \text{iBu}$ o $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OMe}$.

Esquema 12



i. Cs_2CO_3 , MeI, DMF; ii. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$, EtOH / H_2O ; iii. $\text{Mo}(\text{CO})_6$, trans-bis(acetato)bis[o-(di-o-tolilfosfino)benzil]dipaladio (II), DIPEA, DMAP, MeOH, 1,4-dioxano; iv. LiOH, THF / H_2O ; v. HATU, DIPEA, DMF; v. TFA, DCM.

Los compuestos de fórmulas (VI), (XIII), (X), (XIV), (XV), (XVIII), (XIX) y (XXV) se conocen en la bibliografía o están disponibles en el mercado, por ejemplo en *Sigma-Aldrich*, Reino Unido, *Apollo Scientific Limited*, *Alfa Aesar*, *Shanghai Haoyuan Chemexpress Co. Ltd*, *Activate Scientific GmbH Lancaster Synthesis Ltd*, *Fluorochem*, *Hadfield*, *Derbyshire*, Reino Unido, o pueden prepararse por analogía con procedimientos conocidos, por ejemplo los desvelados en textos de referencia estándar de la metodología de síntesis, tales como J. March, *Advanced Organic Chemistry*, 6ª Edición (2007), WileyBlackwell, o *Comprehensive Organic Synthesis* (Trost B.M. y Fleming I., (Eds.), Pergamon Press, 1991), cada uno incorporado en el presente documento por referencia en lo que se refiere a dichos procedimientos.

Los ejemplos de otros grupos protectores que pueden emplearse en las rutas de síntesis descritas en el presente documento y los medios para su eliminación pueden encontrarse en T. W. Greene "Protective Groups in Organic Synthesis", 4ª Edición, J. Wiley and Sons, 2006, incorporado en el presente documento por referencia en lo que se refiere a dichos procedimientos.

Para cualquiera de las reacciones o procesos que se han descrito anteriormente en el presente documento, pueden emplearse métodos convencionales de calentamiento y refrigeración, por ejemplo, baños de aceite de temperatura regulada o bloques calientes de temperatura regulada, y baños de hielo/sales o baños de hielo seco/acetona, respectivamente. Pueden usarse métodos de aislamiento convencionales, por ejemplo, extracción de o en disolventes acuosos o no acuosos. Pueden emplearse métodos convencionales de secado de los disolventes orgánicos, soluciones o extractos, tales como agitación con sulfato de magnesio anhidro, o sulfato sódico anhidro, o pasando a través de un frita hidrófoba. Pueden usarse, según se requiera, métodos convencionales de purificación, por ejemplo, cristalización y cromatografía, por ejemplo, cromatografía sobre sílice o cromatografía de fase inversa. Puede realizarse la cristalización usando los disolventes convencionales, tales como acetato de etilo, metanol, etanol o butanol, o mezclas acuosas de los mismos. Se apreciará que los tiempos de reacción específicos y las temperaturas pueden determinarse normalmente mediante técnicas de control de la reacción, por ejemplo, cromatografía de capa fina y LC-MS.

Cuando pueden prepararse formas isoméricas individuales apropiadas de los compuestos de la invención como isómeros individuales usando procedimientos convencionales, tales como la cristalización fraccionada de derivados diastereoisoméricos o cromatografía líquida de alto rendimiento quiral (HPLC quiral).

La estereoquímica absoluta de los compuestos puede determinarse usando métodos convencionales, tales como cristalografía de rayos X o análisis VCD (dicroísmo circular vibracional).

Métodos de uso

Los compuestos de la invención son inhibidores de PAD4. Los compuestos que inhiben a PAD4 pueden ser útiles en el tratamiento de diversos trastornos, por ejemplo la artritis reumatoide, la vasculitis, el lupus eritematoso sistémico, la colitis ulcerosa, el cáncer, la fibrosis quística, el asma, el lupus eritematoso cutáneo y la psoriasis.

Los métodos de tratamiento de la invención comprenden administrar una cantidad segura y eficaz de un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, a un paciente que lo necesite. Las realizaciones

individuales de la invención incluyen métodos de tratamiento de uno cualquiera de los trastornos mencionados anteriormente mediante la administración de una cantidad segura y eficaz de un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, a un paciente que lo necesite.

Como se utiliza en el presente documento, 'tratar', en referencia a un trastorno, significa: (1) mejorar o prevenir el trastorno o una o más de las manifestaciones biológicas del trastorno, (2) interferir con (a). uno o más puntos de la cascada biológica que conduce a o es responsable del trastorno, o (b). una o más de las manifestaciones biológicas del trastorno, (3) aliviar uno o más de los síntomas o efectos asociados al trastorno, o (4) ralentizar la progresión del trastorno o de una o más de las manifestaciones biológicas del trastorno.

Como se indica anteriormente, 'tratamiento' de un trastorno incluye la prevención del trastorno. Se apreciará que 'prevención' no es un término absoluto. En medicina, 'prevención' se entiende que se refiere a la administración profiláctica de un fármaco para disminuir de forma sustancial la probabilidad o la gravedad de un trastorno o manifestación biológica del mismo, o para retardar el inicio de tal trastorno o manifestación biológica del mismo.

Como se utiliza en el presente documento, 'cantidad segura y eficaz', en referencia a un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o a otro agente farmacéuticamente activo, significa una cantidad del compuesto suficiente para tratar la afección del paciente pero suficientemente baja para evitar los efectos secundarios graves (en una proporción beneficio/riesgo razonable), dentro del buen juicio médico. Una cantidad segura y eficaz de un compuesto variará con el compuesto particular elegido (por ejemplo, se considerará la potencia, la eficacia y la semivida del compuesto); la vía de administración elegida; el trastorno a tratar; la gravedad del trastorno a tratar; la edad, el tamaño, el peso y el estado físico del paciente a tratar; el historial médico del paciente a tratar; la duración del tratamiento; la naturaleza de la terapia simultánea; el efecto terapéutico deseado y factores similares, pero, no obstante, el experto en la materia puede determinarla de forma rutinaria.

Como se utiliza en el presente documento, 'paciente' se refiere a un ser humano (que incluye adultos y niños) u otro animal. En una realización, 'paciente' se refiere a un ser humano.

Los compuestos de la fórmula (I), o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, pueden administrarse mediante cualquier vía de administración adecuada, incluyendo tanto la administración sistémica como la administración tópica. La administración sistémica incluye la administración oral, la administración parenteral, la administración transdérmica y la administración rectal. La administración parenteral se refiere a las vías de administración que no son la entérica o la transdérmica, y normalmente es mediante inyección o infusión. La administración parenteral incluye la inyección o infusión intravenosa, intramuscular o subcutánea. La administración tópica incluye la aplicación en la piel, así como la administración intraocular, ótica, intravaginal, inhalada e intranasal. Inhalación se refiere a administración en los pulmones del paciente ya sea inhalado a través de la boca o a través de las fosas nasales. En una realización, los compuestos de la fórmula (I) o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, pueden administrarse por vía oral. En otra realización, los compuestos de la fórmula (I) o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, se pueden administrar por vía tópica. En otra realización, los compuestos de la fórmula (I) o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, se pueden administrar por inhalación. En una realización adicional, los compuestos de la fórmula (I) o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, se pueden administrar por vía intranasal.

Los compuestos de la fórmula (I) o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, pueden administrarse una vez o de acuerdo con un régimen de dosificación en el que se administran varias dosis a intervalos variables de tiempo, durante un periodo de tiempo dado. Por ejemplo, las dosis se pueden administrar una, dos, tres o cuatro veces al día. En una realización, se administra una dosis una vez por día. En una realización adicional, se administra una dosis dos veces al día. Las dosis pueden administrarse hasta que se logra el efecto terapéutico deseado o de forma indefinida para mantener el efecto terapéutico deseado. Los regímenes de dosificación adecuados para un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, dependen de las propiedades farmacocinéticas de ese compuesto, tal como la absorción, la distribución y la semivida, que un experto en la materia puede determinar. Además, los regímenes de dosificación adecuados, incluyendo la duración de la administración de tales regímenes, para un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, depende del trastorno a tratar, la gravedad del trastorno a tratar, de la edad y el estado físico del paciente a tratar, del historial médico del paciente a tratar, de la naturaleza de la terapia simultánea, del efecto terapéutico deseado y de factores similares, dentro del conocimiento y la experiencia del experto en la materia. Además, tal experto comprenderá que los regímenes de dosificación adecuados pueden necesitar un ajuste dada la respuesta individual del paciente al régimen de dosificación o a lo largo del tiempo, según el paciente individual necesite un cambio.

Las dosificaciones diarias típicas pueden variar dependiendo de la vía particular de administración elegida. Las dosificaciones diarias típicas para la administración oral varían desde 0,1 mg a 10 mg por kg de peso corporal total, por ejemplo de 1 mg a 5 mg por kg de peso corporal total. Por ejemplo, las dosificaciones diarias para la administración oral pueden ser de 5 mg a 1 g por paciente, tal como de 5 mg a 500 mg por paciente o de 5 mg a 250 mg.

La invención proporciona una cantidad segura y eficaz de un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de un trastorno mediado por la actividad inapropiada de PAD4.

- 5 En una realización, el trastorno mediado por la actividad inapropiada de PAD4 se selecciona del grupo que consiste en artritis reumatoide, vasculitis, lupus eritematoso sistémico, colitis ulcerosa, cáncer, fibrosis quística, asma, lupus eritematoso cutáneo y psoriasis. En una realización adicional, el trastorno mediado por la actividad inapropiada de PAD4 es la artritis reumatoide. En una realización adicional, el trastorno mediado por la actividad inapropiada de PAD4 es el lupus sistémico. En una realización adicional, el trastorno mediado por la actividad inapropiada de PAD4 es la vasculitis. En una realización adicional, el trastorno mediado por la actividad inapropiada de PAD4 es el lupus eritematoso cutáneo. En una realización adicional, el trastorno mediado por la actividad inapropiada de PAD4 es la psoriasis.

- 15 En una realización se proporciona una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en el tratamiento de la artritis reumatoide, la vasculitis, el lupus eritematoso sistémico, la colitis ulcerosa, el cáncer, la fibrosis quística, el asma, el lupus eritematoso cutáneo o la psoriasis.

- 20 En una realización se proporciona una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de la artritis reumatoide o en el tratamiento del lupus sistémico, o en el tratamiento de la vasculitis, o en el tratamiento del lupus eritematoso cutáneo o en el tratamiento de la psoriasis.

- 25 En una realización, la invención proporciona un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en terapia. En otra realización, la invención proporciona un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de un trastorno mediado por la actividad inapropiada de PAD4. En otra realización, la invención proporciona un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de la artritis reumatoide, la vasculitis, el lupus eritematoso sistémico, la colitis ulcerosa, el cáncer, la fibrosis quística, el asma, el lupus eritematoso cutáneo o la psoriasis. En otra realización, la invención proporciona un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de la artritis reumatoide. En otra realización, la invención proporciona un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento del lupus sistémico. En otra realización, la invención proporciona un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de la vasculitis. En otra realización, la invención proporciona un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento del lupus eritematoso cutáneo. En otra realización la invención proporciona un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de la psoriasis. En otra realización, la invención proporciona el uso de un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento de un trastorno mediado por la actividad inapropiada de PAD4. En otra realización, la invención proporciona el uso de un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento de la artritis reumatoide, la vasculitis, el lupus eritematoso sistémico, la colitis ulcerosa, el cáncer, la fibrosis quística, el asma, el lupus eritematoso cutáneo o la psoriasis. En otra realización, la invención proporciona el uso de un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento de la artritis reumatoide. En otra realización, la invención proporciona el uso de un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento del lupus sistémico. En otra realización, la invención proporciona el uso de un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento de la vasculitis. En otra realización, la invención proporciona el uso de un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento del lupus eritematoso cutáneo. En otra realización, la invención proporciona el uso de un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento de la psoriasis. En una realización adicional, la invención proporciona una composición farmacéutica para el tratamiento o la profilaxis de un trastorno mediado por la actividad inapropiada de PAD4, que comprende un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una realización adicional, la invención proporciona una composición farmacéutica para el tratamiento o la profilaxis de la artritis reumatoide, la vasculitis, el lupus eritematoso sistémico, la colitis ulcerosa, el cáncer, la fibrosis quística, el asma, el lupus eritematoso cutáneo o la psoriasis, que comprende un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una realización adicional, la invención proporciona una composición farmacéutica para el tratamiento o la profilaxis de la artritis reumatoide, que comprende un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una realización adicional, la invención proporciona una composición farmacéutica para el tratamiento o la profilaxis del lupus sistémico, que comprende un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una realización adicional, la invención proporciona una composición farmacéutica para el tratamiento o la profilaxis de la vasculitis, que comprende un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una realización adicional, la invención proporciona una composición farmacéutica para el tratamiento o la profilaxis del

lupus eritematoso cutáneo que comprende un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una realización adicional, la invención proporciona una composición farmacéutica para el tratamiento o la profilaxis de la psoriasis, que comprende un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5

Composiciones

Los compuestos de la fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos normalmente, pero no necesariamente, se formularán en composiciones farmacéuticas antes de la administración a un paciente. Por consiguiente, en otro aspecto, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. En un aspecto adicional la invención se dirige a composiciones farmacéuticas para el tratamiento o la profilaxis de un trastorno mediado por la actividad inapropiada de PAD4, que comprende un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

15

Las composiciones farmacéuticas de la invención se pueden preparar y envasar en forma a granel, en la que se puede extraer, y proporcionar al paciente, una cantidad segura y eficaz de un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, tal como con polvos o jarabes. Como alternativa, las composiciones farmacéuticas de la invención se pueden preparar y envasar en formas farmacéuticas unitarias en donde cada unidad físicamente discreta contiene un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Cuando se preparan en formas farmacéuticas unitarias, las composiciones farmacéuticas de la invención normalmente pueden contener, por ejemplo, de 0,25 mg a 1 g, o de 0,5 mg a 500 mg, o de 1 mg a 100 mg, de un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

20

Las composiciones farmacéuticas de la invención normalmente contienen un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

25

Como se utiliza en el presente documento, 'excipiente farmacéuticamente aceptable' significa un material, composición o vehículo farmacéuticamente aceptable implicado en la proporción de forma o consistencia a la composición farmacéutica. Cada excipiente debe ser compatible con los otros ingredientes de la composición farmacéutica cuando se mezclan, de forma que cuando se administra a un paciente se evitan las interacciones que podrían reducir sustancialmente la eficacia del compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y las interacciones que podrían dar como resultado una composición farmacéutica que no es farmacéuticamente aceptable. Además, cada excipiente debe ser, por supuesto, farmacéuticamente aceptable, por ejemplo de pureza suficientemente elevada.

30

35

El compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y el excipiente o excipientes farmacéuticamente aceptables, normalmente se formularán en una forma farmacéutica adaptada para la administración al paciente mediante la vía deseada de administración. Por ejemplo, las formas farmacéuticas incluyen las adaptadas para (1) la administración oral tal como comprimidos, cápsulas, comprimidos encapsulados, píldoras, trociscos, polvos, jarabes, elixires, suspensiones, soluciones, emulsiones, sobrecitos y obleas; (2) la administración parenteral tal como soluciones, suspensiones y polvos estériles para la reconstitución; (3) la administración transdérmica tal como parches transdérmicos; (4) la administración rectal tal como supositorios; (5) la inhalación tal como aerosoles, soluciones y polvos secos y (6) la administración tópica tal como cremas, pomadas, lociones, soluciones, pastas, pulverizaciones, espumas y geles.

40

45

Los excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados variarán dependiendo de la forma farmacéutica particular elegida. Además, los excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados pueden elegirse para una función particular para la que pueden servir en la composición. Por ejemplo, determinados excipientes farmacéuticamente aceptables pueden elegirse por su capacidad para facilitar la producción de formas farmacéuticas uniformes. Determinados excipientes farmacéuticamente aceptables pueden elegirse por su capacidad para facilitar la producción de fórmulas farmacéuticas estables. Determinados excipientes farmacéuticamente aceptables pueden elegirse por su capacidad para facilitar el soporte o transporte del compuesto o compuestos de la fórmula (I) o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, una vez administrado al paciente, desde un órgano, o porción del cuerpo, hasta otro órgano o porción del cuerpo. Determinados excipientes farmacéuticamente aceptables se pueden elegir por su capacidad de potenciar el cumplimiento por parte del paciente.

50

55

Los excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados incluyen los siguientes tipos de excipientes: diluyentes, rellenos, aglutinantes, disgregantes, lubricantes, emolientes, agentes de granulación, agentes de recubrimiento, agentes de humectación, disolventes, codisolventes, agentes de suspensión, emulsionantes, edulcorantes, agentes saborizantes, agentes enmascarantes del sabor, agentes colorantes, agentes antiapelmazantes, humectantes, agentes quelantes, plastificantes, agentes que aumentan la viscosidad, antioxidantes, conservantes, estabilizadores, tensioactivos y agentes tamponadores. El experto apreciará que determinados excipientes farmacéuticamente aceptables pueden servir para más de una función y pueden servir para funciones alternativas, dependiendo de cuánto excipiente esté presente en la formulación y de qué otros excipientes están presentes en la formulación.

60

65

Los expertos en la materia poseen el conocimiento y una experiencia en la técnica que les permite seleccionar excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados en cantidades apropiadas para su uso en la invención. Además, existen varias fuentes que están disponibles para el experto que describen los excipientes farmacéuticamente aceptables y pueden ser útiles en la selección de excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados. Los ejemplos incluyen Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Company), The Handbook of Pharmaceutical Additives (Gower Publishing Limited) y The Handbook of Pharmaceutical Excipients (the American Pharmaceutical Association and the Pharmaceutical Press).

Las composiciones farmacéuticas de la invención se preparan utilizando técnicas y métodos conocidos para los expertos en la materia. Algunos de los métodos utilizados de forma común en la técnica se describen en Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Company).

Por consiguiente, en otro aspecto la invención se dirige al proceso para la preparación de una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables, que comprende mezclar los ingredientes. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se puede preparar mediante, por ejemplo, la mezcla a temperatura ambiente y presión atmosférica.

En una realización, los compuestos de la fórmula (I) o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, estarán formulados para la administración oral. En otra realización, los compuestos de la fórmula (I) o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos estarán formulados para la administración inhalada. En una realización adicional, los compuestos de la fórmula (I) o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, estarán formulados para la administración intranasal.

En un aspecto, la invención se dirige a una forma farmacéutica oral sólida, tal como un comprimido o cápsula que comprende una cantidad segura y eficaz de un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, y un diluyente o relleno. Los diluyentes y rellenos adecuados incluyen lactosa, sacarosa, dextrosa, manitol, sorbitol, almidón (por ejemplo almidón de maíz, almidón de patata y almidón pregelatinizado), celulosa y sus derivados (por ejemplo, celulosa microcristalina), sulfato de calcio y fosfato de calcio dibásico. La forma farmacéutica oral sólida puede comprender adicionalmente un aglutinante. Los aglutinantes adecuados incluyen almidón (por ejemplo almidón de maíz, almidón de patata y almidón pregelatinizado), gelatina, goma arábiga, alginato de sodio, ácido alginico, goma tragacanto, goma guar, povidona y celulosa, y sus derivados (por ejemplo celulosa microcristalina). La forma farmacéutica oral sólida puede comprender adicionalmente un disgregante. Los disintegrantes adecuados incluyen crospovidona, glicolato de almidón de sodio, croscarmelosa, ácido alginico y carboximetilcelulosa de sodio. La forma farmacéutica oral sólida puede comprender adicionalmente un lubricante. Los lubricantes adecuados incluyen ácido esteárico, estearato de magnesio, estearato de calcio y talco.

Cuando sea apropiado, las formulaciones unitarias de dosificación para la administración oral pueden microencapsularse. Además, la composición puede prepararse para prolongar o sostener la liberación, como por ejemplo recubriendo o incluyendo material particulado en polímeros, ceras o similares.

Los compuestos de la fórmula (I) o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, también pueden acoplarse con polímeros solubles como transportadores farmacológicos direccionables. Tales polímeros pueden incluir polivinilpirrolidona, copolímero de pirano, polihidroxipropilmetacrilamida-fenol, polihidroxietilaspargamida-fenol o polietilenoóxido-polilisina sustituido con residuos palmitoilo. Adicionalmente, los compuestos de la fórmula (I) o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, pueden estar acoplados a una clase de polímeros biodegradables útiles para lograr la liberación controlada de un fármaco, por ejemplo, ácido poliláctico, polépsilon caprolactona, ácido polihidroxibutírico, poliortoésteres, poliactales, polidihidropiranos, policianoacrilatos y copolímeros de hidrogeles de bloque reticulados o anfipáticos.

En otro aspecto, la invención se dirige a una forma farmacéutica oral líquida. Los líquidos orales, tales como soluciones, jarabes y elixires, se pueden preparar en formas farmacéuticas unitarias de forma que una dada cantidad contiene una cantidad predeterminada de un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Los jarabes se pueden preparar disolviendo el compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en una solución acuosa saborizada de forma adecuada, mientras que los elixires se preparan a través del uso de un vehículo alcohólico no tóxico. Las suspensiones pueden formularse dispersando el compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en un vehículo no tóxico. También pueden añadirse solubilizantes y emulsionantes, tales como alcoholes isoestearílicos etoxilados y ésteres de polioxietileno sorbitol, conservantes, aditivo de sabor tal como aceite de menta o edulcorantes naturales, o sacarina u otros edulcorantes artificiales y similares.

En otro aspecto, la invención está dirigida a una forma farmacéutica adaptada para la administración a un paciente mediante inhalación, por ejemplo, como un polvo seco, un aerosol, una suspensión o una composición en solución.

Las composiciones en polvo seco para la entrega al pulmón mediante la inhalación comprenden normalmente un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como un polvo finamente dividido

junto con uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables como polvos finamente divididos. Los excipientes farmacéuticamente aceptables particularmente adecuados para su uso en polvos son conocidos para los expertos en la materia, e incluyen lactosa, almidón, manitol y mono, di y polisacáridos. El polvo finamente dividido puede prepararse, por ejemplo, mediante micronización y moliendo. En general, el compuesto de tamaño reducido (por ejemplo micronizado) se puede definir mediante un valor de D_{50} de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 micrómetros (por ejemplo, como se mide utilizando difracción láser).

El polvo seco se puede administrar al paciente a través de un inhalador de polvo seco tipo depósito (IPSD) que tenga un depósito adecuado para el almacenamiento múltiple (dosis no medida) del medicamento en forma de polvo seco. Los IPSD incluyen normalmente un medio para la dosificación de cada dosis de medicamento a partir del depósito hasta una posición de entrega. Por ejemplo, los medios de dosificación pueden comprender una cubeta de dosificación que es desplazable desde una primera posición en donde la cubeta se puede llenar con medicamento a partir del depósito, hasta una segunda posición en donde la dosis de medicamento dosificada se hace disponible al paciente para la inhalación.

Como alternativa, el polvo seco se puede presentar en cápsulas (por ejemplo gelatina o plástico), cartuchos o envases de tipo blíster para su uso en un inhalador de polvo seco de multidosis (IPSM). Los IPSM son inhaladores, en donde el medicamento está comprendido dentro de un envase que contiene (o que sostiene de otra forma) múltiples dosis definidas (o partes de las mismas) del medicamento. Cuando el polvo seco se presenta como un envase de tipo blíster, este comprime múltiples blísteres para la contención del medicamento en forma de polvo seco. Los blísteres normalmente se disponen en un modo regular para facilitar la liberación del medicamento de los mismos. Por ejemplo, los blísteres pueden estar dispuestos en un modo generalmente circular sobre un envase de tipo blíster de forma en disco, o los blísteres pueden ser de forma alargada, comprendiendo por ejemplo una tira o una cinta. Cada cápsula, cartucho o blíster puede, por ejemplo, contener entre 200 µg-10 mg del compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Los aerosoles pueden formarse suspendiendo o disolviendo un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en un propulsor licuado. Los propulsores adecuados incluyen halocarburos, hidrocarburos y otros gases licuados. Los propulsores representativos incluyen: triclorofluorometano (propulsor 11), diclorofluorometano (propulsor 12), diclorotetrafluoroetano (propulsor 114), tetrafluoroetano (HFA-134a), 1,1-difluoroetano (HFA-152a), difluorometano (HFA-32), pentafluoroetano (HFA-12), heptafluoropropano (HFA-227a), perfluoropropano, perfluorobutano, perfluoropentano, butano, isobutano y pentano. Los aerosoles que comprenden un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, normalmente se administrarán a un paciente a través de un inhalador de dosis medida (IDM). Tales dispositivos son conocidos por los expertos en la materia.

Los aerosoles pueden contener excipientes farmacéuticamente aceptables adicionales utilizados normalmente con los IDM, tales como tensioactivos, lubricantes, codisolventes y otros excipientes para mejorar la estabilidad física de la formulación, para mejorar el desempeño de válvula, para mejorar la solubilidad o para mejorar el gusto.

Por lo tanto, se proporciona como un aspecto adicional de la invención una formulación farmacéutica en aerosol que comprende un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un fluorocarburo o clorofluorocarburo que contiene hidrógeno como propulsor, opcionalmente en combinación con un tensioactivo y/o un codisolvente.

De acuerdo con otro aspecto de la invención, se proporciona una formulación farmacéutica en aerosol en la que el propulsor se selecciona de 1,1,1,2-tetrafluoroetano, 1,1,1,2,3,3,3-heptafluoro-n-propano y mezclas de los mismos.

Las formulaciones de la invención pueden tamponarse mediante la adición de agentes tamponadores adecuados.

Las cápsulas y cartuchos para su uso en un inhalador o insuflador, de por ejemplo gelatina, se pueden formular conteniendo una mezcla en polvo para la inhalación de un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y una base en polvo adecuada tal como lactosa o almidón. En general, cada cápsula o cartucho puede contener desde 200 µg a 10 mg del compuesto de la fórmula (I) o la sal farmacéuticamente del mismo. Como alternativa, el compuesto de la fórmula (I) o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo, pueden estar presentes sin excipientes tales como la lactosa.

La proporción del compuesto activo de la fórmula (I) o la farmacéuticamente aceptable del mismo, en las composiciones locales de acuerdo con la invención, depende del tipo de formulación precisa a preparar pero en general estará en el intervalo del 0,01 al 10 % en peso. En general, para la mayoría de los tipos de preparación, la proporción utilizada estará en el intervalo del 0,05 al 1 %, por ejemplo del 0,1 al 0,5 %.

Las formulaciones en aerosol preferentemente se disponen de forma que cada dosis medida o descarga del aerosol contenga de 20 µg a 10 mg, preferentemente de 20 µg a 5 mg, más preferentemente de aproximadamente 20 µg a 0,5 mg de un compuesto de la fórmula (I). La administración puede ser una vez al día o varias veces al día, por ejemplo 2, 3, 4 u 8 veces, dando por ejemplo 1, 2 o 3 dosis cada vez. La dosis diaria total con un aerosol estará

dentro del intervalo de 100 µg a 10 mg, por ejemplo de 200 µg a 5 mg. La dosis diaria total y la dosis medida entregada mediante cápsulas y cartuchos en un inhalador o insuflador, en general será el doble que la entregada con las formulaciones en aerosol.

En el caso de las formulaciones en aerosol en suspensión, el tamaño de partícula del fármaco particulado (por ejemplo micronizado) debería ser tal que permita la inhalación de sustancialmente todo el fármaco en los pulmones tras la administración de la formulación en aerosol y, así, será de menos de 100 micrómetros, a ser posible de menos de 20 micrómetros y en particular en el intervalo de 1 a 10 micrómetros, tal como de 1 a 5 micrómetros, más preferentemente de 2 a 3 micrómetros.

Las formulaciones de la invención se pueden preparar mediante la dispersión o la disolución del medicamento y un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el propulsor seleccionado en un recipiente apropiado, por ejemplo, con la ayuda de tratamiento con ultrasonido o de un mezclador de alto cizallamiento. El proceso se lleva a cabo a ser posible bajo condiciones de humedad controlada.

La estabilidad química y física y la aceptabilidad farmacéutica de las formulaciones en aerosol de acuerdo con la invención, se pueden determinar mediante técnicas bien conocidas por los expertos en la materia. Por lo tanto, por ejemplo, la estabilidad química de los componentes se puede determinar mediante ensayos de HPLC, por ejemplo tras el almacenamiento prolongado del producto. Los datos de estabilidad física se pueden obtener de otras técnicas analíticas convencionales tales como, por ejemplo, pruebas de fugas, mediante el ensayo de entrega de la válvula (pesos promedio de descarga por accionamiento), mediante ensayo de reproducibilidad de la dosis (principio activo por accionamiento) y análisis de distribución de la pulverización.

La estabilidad de las formulaciones en aerosol en suspensión de acuerdo con la invención, se puede medir mediante técnicas convencionales, por ejemplo, midiendo la distribución del tamaño de floculación utilizando un instrumento de luz retrodispersa o midiendo la distribución del tamaño de partícula mediante el impacto en cascada o mediante el proceso analítico '*twin impinger*'. Como se utiliza en el presente documento la referencia al ensayo '*twin impinger*' significa 'determinación del depósito de la dosis emitida en inhalaciones presurizadas utilizando el aparato A' como se define en la British Pharmacopoeia 1988, páginas A204-207, apéndice XVII C. Tales técnicas permiten calcular la 'fracción respirable' de las formulaciones en aerosol. Un método utilizado para calcular la 'fracción respirable' es mediante la referencia a la 'fracción de partículas finas', que es la cantidad de principio activo recolectado en la cámara de impacto inferior por accionamiento, expresado como un porcentaje de la cantidad total de principio activo entregado por accionamiento utilizando el método de *twin impinger* descrito anteriormente.

La frase 'inhalador de dosis medida' o IDM, significa una unidad que comprende un envase metálico, un tapón asegurado que cubre el envase metálico y una válvula de dosificación de la formulación situada en el tapón. El sistema IDM incluye un dispositivo de canalización adecuado. Los dispositivos de canalización adecuados comprenden, por ejemplo, un accionador de válvula y un conducto cilíndrico o de tipo cono, a través del que se puede entregar el medicamento a partir del cartucho relleno a través de la válvula de dosificación hasta la nariz o la boca de un paciente, tal como un accionador de boquilla.

En general, los cartuchos de IDM comprenden un recipiente que tiene la capacidad de soportar la presión de vapor del propulsor utilizado, tal como una botella de plástico o de plástico recubierta de vidrio o preferentemente un envase metálico, por ejemplo, de aluminio o una aleación del mismo, que puede de forma opcional estar anodizado, recubierto con laca y/o recubierto con plástico (por ejemplo, el documento WO 96/32099 incorporado en el presente documento como referencia, en el que parte o todas las superficies internas están recubiertas con uno o más polímeros de fluorocarburo, de forma opcional en combinación con uno o más polímeros no fluorocarburos), cuyo recipiente se cierra con una válvula de dosificación. El tapón puede asegurarse sobre el envase metálico a través de soldadura ultrasónica, por atornillado o corrugado. Los IDM enseñados en el presente documento pueden prepararse mediante métodos de la técnica (por ejemplo véase Byron, anteriormente y el documento WO 96/32099). Preferentemente, el cartucho se adapta con un ensamblaje de tapón, en donde la válvula de dosificación de fármaco se sitúa en el tapón y dicho tapón se corruga en su lugar.

En una realización de la invención la superficie metálica interna del envase metálico está recubierta con un fluoropolímero, más preferentemente mezclado con un no fluoropolímero. En otra realización de la invención la superficie metálica interna del envase metálico está recubierta con una mezcla polimérica de politetrafluoroetileno (PTFE) y polietersulfona (PES). En una realización adicional de la invención, la totalidad de la superficie metálica interna del envase metálico está recubierta con una mezcla polimérica de politetrafluoroetileno (PTFE) y polietersulfona (PES).

Las válvulas de dosificación se diseñan para entregar una cantidad medida de la formulación por accionamiento e incorporan una junta para evitar la filtración del propulsor a través de la válvula. La junta puede comprender cualquier material elastomérico adecuado tal como, por ejemplo, polietileno de baja densidad, clorobutilo, bromobutilo, EPDM, cauchos de butadieno-acrilonitrilo negro y blanco, caucho de butilo y neopreno. Las válvulas adecuadas están disponibles de forma comercial de fabricantes bien conocidos en la industria de aerosoles, por

ejemplo, de Valois, Francia (por ejemplo DF10, DF30, DF60), Bepak plc, RU (por ejemplo BK300, BK357) y 3M-Neotech Ltd, RU (por ejemplo Spraymiser™).

En diversas realizaciones, los IDM también pueden utilizarse en conjunción con otras estructuras tales como, pero sin limitación, embalajes de envoltura para el almacenamiento y la contención de los IDM, incluyendo los descritos en las patentes de Estados Unidos n.º 6.119.853; 6.179.118; 6.315.112; 6.352.152; 6.390.291 y 6.679.374, así como unidades de recuento de dosis tales como, pero sin limitación, las descritas en las patentes de Estados Unidos n.º 6.360.739 y 6.431.168.

Pueden emplearse para la preparación de lotes a gran escala para la producción comercial de cartuchos rellenos, los métodos convencionales de fabricación a granel y la maquinaria bien conocidos para los expertos en la técnica de la fabricación farmacéutica de aerosoles. Por lo tanto, por ejemplo, en un método de fabricación a granel para la preparación de formulaciones en aerosol en suspensión, se corruga una válvula de dosificación sobre un envase metálico de aluminio para formar un cartucho vacío. El medicamento particulado se añade a un recipiente de carga y el propulsor licuado, junto con los excipientes opcionales, se rellena a presión dentro de un recipiente de fabricación a través del recipiente de carga. La suspensión del fármaco se mezcla antes de la recirculación hasta una máquina de llenado y después se rellena dentro del cartucho una alícuota de la suspensión de fármaco a través de la válvula de dosificación. En un ejemplo de método de fabricación a granel para preparar formulaciones en solución en aerosol, se corruga una válvula de dosificación sobre un envase metálico de aluminio para formar un cartucho vacío. El propulsor licuado, junto con los excipientes opcionales y el medicamento disuelto, se rellenan a presión dentro del recipiente de fabricación a través del recipiente de carga.

En un proceso alternativo, se añade una alícuota de la formulación licuada a un frasco abierto en condiciones que están suficientemente frías para asegurar que la formulación no se evapora y después se corruga una válvula de dosificación sobre el frasco.

Normalmente, en los lotes preparados para el uso farmacéutico, cada cartucho relleno se pondera por peso, se codifica con un número de lote y se empaqueta en una bandeja para el almacenamiento antes de la prueba de liberación.

Las suspensiones y soluciones que comprenden un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, también pueden administrarse a un paciente a través de un nebulizador. El agente disolvente o de suspensión utilizado para la nebulización puede ser cualquier líquido farmacéuticamente aceptable tal como agua, solución salina acuosa, alcoholes o glicoles, por ejemplo, etanol, alcohol isopropílico, glicerol, propilenglicol, polietilenglicol, etc., o mezclas de los mismos. Las soluciones salinas utilizan sales que tras la administración presentan poca o ninguna actividad farmacológica. Pueden utilizarse para este fin las sales orgánicas, tales como las sales de metal alcalino o las halógenas de amonio, por ejemplo, cloruro de sodio, cloruro de potasio o sales orgánicas, tales como las sales de potasio, sodio o amonio, u ácidos orgánicos, por ejemplo ácido ascórbico, ácido cítrico, ácido acético, ácido tartárico, etc.

Se pueden añadir a la suspensión o solución otros excipientes farmacéuticamente aceptables. El compuesto de la fórmula (I) o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo, puede estabilizarse mediante la adición de un ácido inorgánico, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido nítrico, ácido sulfúrico y/o ácido fosfórico; un ácido orgánico, por ejemplo ácido ascórbico, ácido cítrico, ácido acético y ácido tartárico, etc., un agente complejante tal como EDTA o ácido cítrico, y sales de los mismos; o un antioxidante tal como un antioxidante tal como la vitamina E o el ácido ascórbico. Para estabilizar el compuesto de la fórmula (I) o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo, estos pueden utilizarse solos o juntos. Se pueden añadir conservantes tales como cloruro de benzoato o ácido benzoico y sales de los mismos. Se pueden añadir tensioactivos, en particular para mejorar la estabilidad física de las suspensiones. Estos incluyen lecitina, dioctilsufosuccinato de disodio, ácido oleico y ésteres de sorbitán.

En un aspecto adicional, la invención se dirige a una forma farmacéutica adaptada para la administración intranasal.

Las formulaciones para la administración en la nariz pueden incluir formulaciones en aerosol presurizadas y formulaciones acuosas administradas en la nariz mediante una bomba presurizada. Son de particular interés las formulaciones que no son presurizadas y están adaptadas para administrarse por vía tópica a la cavidad nasal. Para este fin, las formulaciones adecuadas contienen agua como diluyente o transportador. Las formulaciones acuosas para la administración al pulmón o en la nariz pueden proporcionarse con excipientes convencionales tales como agentes tamponadores, agentes modificadores de la tonicidad y similares. Las formulaciones acuosas también pueden administrarse en la nariz mediante nebulización.

Los compuestos de la fórmula (I) o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, se pueden formular como una formulación fluida para la entrega desde un dispensador de fluidos, por ejemplo un dispensador de fluidos que tenga una boquilla de dispensación u orificio de dispensación a través del que se dispensa una dosis medida de la formulación fluida, tras la aplicación de una fuerza aplicada por el usuario a un mecanismo de bombeo del dispensador de fluidos. En general, tales dispensadores de fluido se proporcionan con un depósito de múltiples dosis medidas de la formulación fluida, dispensándose las dosis tras los accionamientos secuenciales de la bomba. La

boquilla u orificio de dispensación puede configurarse para la inserción en los orificios nasales del usuario, para la dispensación en pulverización de la formulación fluida en la cavidad nasal. Se describe e ilustra un dispensador de fluidos del tipo mencionado anteriormente en el documento WO 05/044354, el contenido entero del cual se incorpora como referencia por el presente documento. El dispensador tiene una carcasa que aloja un dispositivo de vertido de fluidos que tiene una bomba de compresión montada sobre un recipiente para contener una formulación fluida. La carcasa tiene al menos una palanca lateral operable mediante un dedo, que es desplazable hacia adentro con respecto a la carcasa, para accionar el recipiente de forma ascendente en la carcasa para provocar que la bomba comprima y bombee una dosis medida de la formulación fuera del vástago de la bomba a través de la boquilla nasal de la carcasa. En una realización, el dispensador de fluidos es del tipo general ilustrado en las Figuras 30-40 de la publicación WO 05/044354.

Las composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración intranasal, en donde el transportador es un sólido, incluyen un polvo grueso que tiene un tamaño de partícula por ejemplo en el intervalo de 20 a 500 micrómetros, que se administra mediante inhalación rápida del polvo a través de las fosas nasales desde un recipiente sujeto cerca de la nariz. Las composiciones adecuadas, en donde el transportador es un líquido, para la administración como una pulverización nasal o como gotas nasales, incluyen soluciones acuosas u oleosas del compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Las composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración transdérmica pueden presentarse como parches discretos destinados a permanecer en íntimo contacto con la epidermis del paciente durante un periodo prolongado de tiempo. Por ejemplo, el principio activo puede administrarse desde el parche mediante iontoforesis, como se describe en general en Pharmaceutical Research, 3(6), 318 (1986).

Las composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración tópica pueden formularse como pomadas, cremas, suspensiones, lociones, polvos, soluciones, pastas, geles, pulverizaciones, aerosoles o aceites.

Las pomadas, cremas y geles pueden, por ejemplo, formularse con una base acuosa u oleosa con la adición de un agente espesante y/o gelificante adecuado y/o disolventes. Así, tales bases pueden, por ejemplo, incluir agua y/o un aceite tal como parafina líquida o un aceite vegetal tal como aceite de cacahuete o aceite de ricino, o un disolvente tal como polietilenglicol. Los agentes espesantes y los agentes gelificantes que pueden utilizarse de acuerdo con la naturaleza de la base incluyen parafina blanda, estearato de aluminio, alcohol cetosteárico, polietilenglicoles, lanolina, cera de abejas, carboxipolimetileno y derivados de celulosa, y/o monoestearato de glicerilo y/o agentes emulsionantes no iónicos.

Las lociones se pueden formular con una base acuosa u oleosa, y en general contendrán también uno o más agentes emulsionantes, agentes estabilizadores, agentes dispersantes, agentes de suspensión y agentes espesantes.

Los polvos para aplicación externa se pueden formar con la ayuda de cualquier base en polvo adecuada, por ejemplo, talco, lactosa o almidón. Las gotas se pueden formular con una base acuosa o no acuosa que también comprenda uno o más agentes dispersantes, agentes solubilizantes, agentes de suspensión o conservantes.

Las preparaciones tópicas se pueden administrar al área afectada mediante una o más aplicaciones por día. De forma ventajosa, se pueden utilizar vendajes oclusivos sobre zonas de la piel. La entrega continua o prolongada puede lograrse mediante un sistema de depósito adhesivo.

Para el tratamiento del ojo o de otros tejidos externos, por ejemplo la boca o la piel, las composiciones pueden aplicarse como una pomada o crema tópica. Cuando se formulan en una pomada, el compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se puede emplear con ya sea una base de pomada parafínica o una miscible en agua. Como alternativa, el compuesto de la fórmula (I) o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se puede formular en una crema con una base de crema de aceite en agua o una base de agua en aceite.

Las composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración parenteral incluyen soluciones de inyección estériles acuosas y no acuosas que pueden contener antioxidantes, tampones, bacterioestáticos y solutos que hacen isotónica la formulación con la sangre del destinatario pretendido, y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes. Las composiciones pueden presentarse en recipientes de dosis única o de multidosis, por ejemplo ampollas y viales sellados, y pueden almacenarse en un estado congelado en seco (liofilizado), que necesita solo la adición inmediatamente antes del uso del transportador líquido estéril, por ejemplo agua para inyecciones. Las soluciones y suspensiones para inyecciones extemporáneas se pueden preparar a partir de polvos, gránulos y comprimidos estériles.

La invención se ilustrará ahora por medio de los siguientes ejemplos no limitativos.

Métodos generales

A menos que se indique otra cosa, los materiales de partida están disponibles en el mercado. Todos los disolventes

y reactivos comerciales eran de calidad de laboratorio y se usaron según se recibieron.

Cuando se representan los diaestereoisómeros y únicamente se hace referencia a la estereoquímica relativa, se usan símbolos en negrita o discontinuos (**—/|**). Cuando se conoce la estereoquímica absoluta y el compuesto es un enantiómero individual, se usan los símbolos de cuña en negrita y discontinuos (**—/|**) según sea apropiado.

Métodos analíticos

10 Método A

El análisis por LCMS se realizó en una columna Acquity UPLC BEH C₁₈ (50 mm x 2,1 mm de d.i. 1,7 µm de diámetro de empaquetamiento) a 40 grados centígrados, eluyendo con amonio bicarbonato 10 mM en agua ajustado a pH 10 con una solución de amoníaco (Disolvente A) y acetonitrilo (Disolvente B) usando el siguiente gradiente de elución: 0-1,5 min: 1-97 % de B, 1,5-1,9 min: 97 % de B, 1,9-2,0 min: B al 100 % a un caudal de 1 ml/min. La detección UV era una señal sumada de longitud de onda de 210 nm a 350 nm. Los espectros de masas se registraron en un espectrómetro de masas Waters ZQ usando electronebulización positiva y negativa de exploración alterna. Los datos de ionización se redondearon al número entero más cercano.

20 Método B

El análisis por LCMS se realizó en una columna Acquity UPLC BEH C₁₈ (50 mm x 2,1 mm de d.i. 1,7 µm de diámetro de empaquetamiento) a 40 grados centígrados, eluyendo con una solución al 0,1 % v/v de ácido fórmico en agua (Disolvente A) y una solución al 0,1 % v/v de ácido fórmico en acetonitrilo (Disolvente B) usando el siguiente gradiente de elución: 0-1,5 min: 3-100 % de B, 1,5-1,9 min: 100 % de B, 1,9-2,0 min: 3 % de B a un caudal de 1 ml/min. La detección UV era una señal sumada de longitud de onda de 210 nm a 350 nm. Los espectros de masas se registraron en un espectrómetro de masas Waters ZQ usando electronebulización positiva y negativa de exploración alterna. Los datos de ionización se redondearon al número entero más cercano.

30 Método C

El análisis por LCMS se realizó en una columna Acquity UPLC BEH C₁₈ (50 mm x 2,1 mm de d.i. 1,7 µm de diámetro de empaquetamiento) a 40 grados centígrados, eluyendo con una solución al 0,1 % v/v de ácido trifluoroacético en agua (Disolvente A) y una solución al 0,1 % v/v de ácido trifluoroacético en acetonitrilo (Disolvente B) usando el siguiente gradiente de elución: 0-1,5 min: 3-100 % de B, 1,5-1,9 min: 100 % de B, 1,9-2,0 min: 3 % de B a un caudal de 1 ml/min. La detección UV era una señal sumada de longitud de onda de 210 nm a 350 nm. Los espectros de masas se registraron en un espectrómetro de masas Waters ZQ usando electronebulización positiva y negativa de exploración alterna. Los datos de ionización se redondearon al número entero más cercano.

40 Método D

El análisis por LCMS se realizó en una columna HALO C₁₈ (50 mm x 4,6 mm d.i. 2,7 µm de diámetro de empaquetamiento) a 40 grados centígrados, eluyendo con una solución al 0,1 % v/v de ácido fórmico en agua (Disolvente A) y una solución al 0,1 % v/v de ácido fórmico en acetonitrilo (Disolvente B) usando el siguiente gradiente de elución: 0-1,8 min: 5 % de B, 1,8-2,01 min: 100 % de B, 2,01-2,8 min: 5 % de B a un caudal de 1,5 ml/min. La detección UV era una señal sumada a una longitud de onda: 214 nm y 254 nm. MS: Fuente iónica: ESI; Tensión del detector: 1,4 KV; Temp. de bloqueo de calor: 250 °C; Temp. CDL: 250 °C; Flujo de gas nebulizador: 1,5 ml/min.

50 Método E

El análisis por LCMS se realizó en una columna HALO C₁₈ (50 mm x 4,6 mm d.i. 2,7 µm de diámetro de empaquetamiento) a 40 grados centígrados, eluyendo con una solución al 0,1 % v/v de ácido fórmico en agua (Disolvente A) y una solución al 0,1 % v/v de ácido fórmico en acetonitrilo (Disolvente B) usando el siguiente gradiente de elución: 0-1 min: 5 % de B, 1-2,01 min: 95 % de B, 2,01-2,5 min: 5 % de B a un caudal de 1,8 ml/min. La detección UV era una señal sumada a una longitud de onda: 214 nm y 254 nm. MS: Fuente iónica: ESI; Flujo de gas de secado: 10 l/min; Presión de nebulizador: 45 psi (310,26); Temperatura de gas de secado: 330 °C; Tensión de capilaridad: 4000 V.

60 Método GC general

El análisis por GCMS se realizó en un equipo Agilent 6890/5973 GCMS con una columna de capilaridad Agilent HP-5 (0,25 µm x 30 m, d.i. 0,25 mm). La temperatura inicial es de 50 °C. El tiempo de equilibrio es de 0,50 min. El tiempo inicial es de 1,00 min. Después, la temperatura aumenta a 180 °C con una velocidad de 10°/min, después se eleva a 240 °C con una velocidad de 20 °C/min, después se mantiene a 240 °C durante 5,00 min. El modo de

inyección es sin división. El flujo de gas es de 1,00 ml/min y el flujo total es de 23,2 ml/min. La velocidad media es de 36 cm/s. El modo de adquisición es exploración. El método de ionización es 70eV EI (ionización electrónica).

Los espectros de ^1H RMN se registraron usando un espectrómetro Bruker DPX 400 MHz o AV 600 MHz, en referencia a tetrametilsilano.

Las técnicas de cromatografía sobre sílice incluyen técnicas automatizadas (Flashmaster, Biotage SP4) o cromatografía manual sobre cartuchos prerellenados (SPE) o columnas ultrarrápidas rellenas manualmente.

Cuando se da el nombre de un proveedor comercial después del nombre de un compuesto o un reactivo, por ejemplo "compuesto X (Aldrich)" o "compuesto X/Aldrich", esto significa que el compuesto X puede obtenerse a partir de un proveedor comercial, tal como el proveedor comercial nombrado.

De forma análoga, cuando se proporciona una bibliografía o una referencia de patente después del nombre de un compuesto, por ejemplo "compuesto Y (documento EP 0 123 456)", esto significa que la preparación del compuesto se describe en la referencia nombrada.

Los nombres de los intermedios y ejemplos se han obtenido usando el programa de nombrado de compuestos en ChemBioDraw Ultra v12, o como alternativa usando "ACD Name Pro 6.02".

Métodos de purificación por MDAP generales

A continuación se enumeran ejemplos de métodos de cromatografía autopreparativa dirigida a masas (MDAP) que se han usado o pueden usarse en la purificación de compuestos.

MDAP (Método A). El análisis por HPLC se realiza en una columna XBridge C₁₈ (100 mm x 30 mm d.i. 5 µm de diámetro de empaquetamiento) a temperatura ambiente, eluyendo con amonio bicarbonato 10 mM en agua ajustado a pH 10 con una solución de amoníaco (Disolvente A) y acetonitrilo (Disolvente B) usando el siguiente gradiente de elución:

Tiempo (min)	Caudal (ml/min)	% de A	% de B
0	40	85	15
1	40	85	15
10	40	45	55
11	40	1	99
15	40	1	99

La detección UV es una señal promediada de una longitud de onda de 210 nm a 350 nm. Los espectros de masa se registraron en un espectrómetro de masas Waters ZQ usando electronebulización positiva y negativa de exploración alterna. Los datos de ionización se redondearon al número entero más cercano.

MDAP (Método B). El análisis por HPLC se realiza en una columna XBridge C₁₈ (100 mm x 30 mm d.i. 5 µm de diámetro de empaquetamiento) a temperatura ambiente, eluyendo con amonio bicarbonato 10 mM en agua ajustado a pH 10 con una solución de amoníaco (Disolvente A) y acetonitrilo (Disolvente B) usando el siguiente gradiente de elución:

Tiempo (min)	Caudal (ml/min)	% de A	% de B
0	40	85	15
1	40	85	15
20	40	45	55
21	40	1	99
25	40	1	99

La detección UV es una señal promediada de una longitud de onda de 210 nm a 350 nm. Los espectros de masa se registraron en un espectrómetro de masas Waters ZQ usando electronebulización positiva y negativa de exploración alterna. Los datos de ionización se redondearon al número entero más cercano.

MDAP (Método C). El análisis por HPLC se realiza en una columna Sunfire C₁₈ (150 mm x 30 mm d.i. 5 µm de diámetro de empaquetamiento) a temperatura ambiente, eluyendo con una solución al 0,1 % v/v de ácido trifluoroacético en agua (Disolvente A) y una solución al 0,1 % v/v de ácido trifluoroacético en acetonitrilo (Disolvente B) usando el siguiente gradiente de elución:

Tiempo (min)	Caudal (ml/min)	% de A	% de B
0	40	100	0
3	40	100	0
3,5	30	100	0
24,5	30	70	30
25	30	1	99
32	30	1	99

La detección UV es una señal promediada de una longitud de onda de 210 nm a 350 nm. Los espectros de masa se registraron en un espectrómetro de masas Waters ZQ usando electronebulización positiva y negativa de exploración alterna. Los datos de ionización se redondearon al número entero más cercano.

MDAP (Método D). El análisis por HPLC se realiza en una columna Sunfire C₁₈ (150 mm x 30 mm d.i. 5 µm de diámetro de empaquetamiento) a temperatura ambiente, eluyendo con amonio bicarbonato 10 mM en agua ajustado a pH 10 con una solución de amoniaco (Disolvente A) y acetonitrilo (Disolvente B) usando el siguiente gradiente de elución:

Tiempo (min)	Caudal (ml/min)	% de A	% de B
0	40	100	0
3	40	100	0
3,5	30	100	0
24,5	30	70	30
25	30	1	99
32	30	1	99

La detección UV es una señal promediada de una longitud de onda de 210 nm a 350 nm. Los espectros de masa se registraron en un espectrómetro de masas Waters ZQ usando electronebulización positiva y negativa de exploración alterna. Los datos de ionización se redondearon al número entero más cercano.

MDAP (Método E). El análisis por HPLC se realizó en una columna XBridge C₁₈ (100 mm x 30 mm d.i. 5 µm de diámetro de empaquetamiento) a temperatura ambiente, eluyendo con Bicarbonato de amonio 10 mM en agua ajustado a pH 10 con una solución de amoniaco (Disolvente A) y Acetonitrilo (Disolvente B) usando un gradiente de elución de entre el 0 y el 100 % del Disolvente B durante 15 o 25 minutos.

La detección UV era una señal promediada de una longitud de onda de 210 nm a 350 nm. Los espectros de masas se registraron en un espectrómetro de masas Waters ZQ usando electronebulización positiva y negativa de exploración alterna. Los datos de ionización se redondearon al número entero más cercano.

MDAP (Método F). El análisis por HPLC se realizó en una columna Sunfire C₁₈ (150 mm x 30 mm d.i. 5 µm de diámetro de empaquetamiento) a temperatura ambiente, eluyendo con una solución al 0,1 % v/v de ácido trifluoroacético en Agua (Disolvente A) y una solución al 0,1 % v/v de ácido trifluoroacético en Acetonitrilo (Disolvente B) usando un gradiente de elución de entre el 0 y el 100 % del Disolvente B durante 15 o 25 minutos.

La detección UV era una señal promediada de una longitud de onda de 210 nm a 350 nm. Los espectros de masas se registraron en un espectrómetro de masas Waters ZQ usando electronebulización positiva y negativa de exploración alterna. Los datos de ionización se redondearon al número entero más cercano.

MDAP (Método G). El análisis por HPLC se realizó en una columna Sunfire C₁₈ (150 mm x 30 mm d.i. 5 µm de diámetro de empaquetamiento) a temperatura ambiente, eluyendo con ácido fórmico al 0,1 % en agua (Disolvente A) y ácido fórmico al 0,1 % en acetonitrilo (Disolvente B) usando un gradiente de elución de entre el 0 y el 100 % del Disolvente B durante 15 o 25 minutos.

La detección UV era una señal promediada de una longitud de onda de 210 nm a 350 nm. Los espectros de masas se registraron en un espectrómetro de masas Waters ZQ usando electronebulización positiva y negativa de exploración alterna. Los datos de ionización se redondearon al número entero más cercano.

Métodos de HPLC quiral generales

Método A: Cromatografía analítica quiral

Columna	Chiralpak AD-H, 250 x 4,6 mm	
Fase Móvil	A: n-Hexano	B: Etanol
Perfil de Gradiente	90:10 de fase móvil A:B	
Caudal	1 ml/min	
Temperatura de Columna	20 °C	
Longitud de detección	215 nm o UV DAD (300 nm (ancho de banda 180 nm, referencia 550 nm (ancho de banda 100 nm))	

Método B: Cromatografía preparativa quiral

Columna	Chiralpak AD-H, 250 x 30 mm, 5 µm [ADH10029-01]	
Fase Móvil	A: n-Hexano	B: Etanol
Perfil de Gradiente	Sistema isocrático por etapas - 90:10 de fase móvil A:B	
Tiempo de Realización	20 min	
Caudal	45 ml/min	
Temperatura de Columna	20 °C	
Detección	UV DAD (300 nm (ancho de banda 180 nm, referencia 550 nm (ancho de banda 100 nm))	

Método C: Cromatografía preparativa quiral

5

Condiciones iniciales:

Columna	Chiralpak AD, 250 x 20 mm, 20 µm [auto-empaquetada]	
Fase Móvil	A: n-Hexano	B: Etanol
Perfil de Gradiente	90:10 de fase móvil A:B	
Caudal	75 ml/min	
Temperatura de Columna	20 °C	
Longitud de detección	215 nm	

Se tomó un corte inicial del borde frontal del pico usando las condiciones iniciales. Esto proporcionó un corte enriquecido del primer isómero de elución deseado que después se purificó usando las condiciones secundarias.

10

Condiciones secundarias:

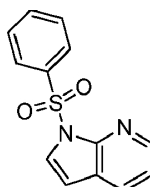
Columna	Chiralpak AD-H, 250 x 30 mm, 5 µm [ADH10029-01]	
Fase Móvil	A: n-Hexano	B: Etanol
Perfil de Gradiente	90:10 de fase móvil A:B	
Caudal	40 ml/min	
Temperatura de Columna	20 °C	
Longitud de onda de detección	215 nm	

Método D: Cromatografía preparativa quiral

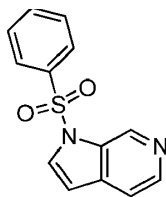
Columna	Chiralpak AD-H, 25cm x 30 mm, [ADH10029-01]	
Fase Móvil	A: n-Heptano	B: isopropanol
Perfil de Gradiente	70:30 de fase móvil A:B	
Caudal	15 ml/min	
Temperatura de Columna	20 °C	
Longitud de detección	215 nm	

Intermedios

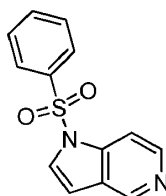
15

Intermedio 1: 1-(Fenilsulfonyl)-1H-pirrolo[2,3-b]piridina

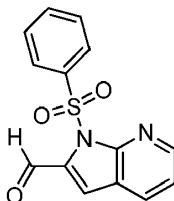
- 20 A una solución de 1H-pirrolo[2,3-b]piridina (20 g, 169 mmol, (disponible, por ejemplo, en Sigma Aldrich) en tetrahidrofurano (THF) (250 ml) se le añadió en porciones hidruro sódico (10,16 g, 254 mmol) durante 5 min en una atmósfera de nitrógeno a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 30 min, después se añadió gota a gota cloruro de bencenosulfonilo en una atmósfera de nitrógeno a 0 °C y después se agitó durante 2 h a t.a., hasta que el material de partida se había consumido completamente (TLC, EtOAc:PE = 1:1). La mezcla se vertió en H₂O (200 ml)
- 25 y se extrajo con EtOAc (3 x 200 ml). Las capas orgánicas se lavaron con salmuera (3 x 150 ml), se secaron sobre Na₂SO₄ y se filtraron. El disolvente se evaporó al vacío para dar el producto en bruto, que se purificó por recristalización con (EtOAc y PE) para dar el producto deseado en forma de un sólido de color blanco (30 g, 69 %) LCMS (Método D): Tr = 1,76 min, MH⁺ = 259

Intermedio 2: 1-(Fenilsulfonyl)-1H-pirrolo[2,3-c]piridina

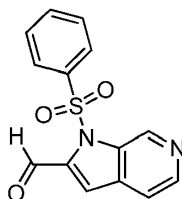
- 5 Preparada de forma similar al intermedio 1 partiendo de 1H-pirrolo[2,3-c]piridina (disponible, por ejemplo, en Apollo Scientific Ltd).
 1 H RMN (DMSO-d₆): 9,24 (1 H, s, CH), 8,40 (1 H, d, CH), 8,11-8,08 (3H, m, CH), 7,82-7,62 (4H, m, CH), 6,95 (1 H, d, CH).

10 Intermedio 3: 1-(Fenilsulfonyl)-1H-pirrolo[3,2-c]piridina

- 15 Preparada de forma similar al intermedio 1 partiendo de 1 H-pirrolo[3,2-c]piridina (disponible, por ejemplo, en Apollo Scientific Ltd).
 1 H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 8,91 (1 H, s, CH), 8,46 (1 H, d, CH), 8,07 (2H, d, CH), 7,96-7,92 (2H, m, CH), 7,74 (1 H, t, CH), 7,64 (2H, t, CH), 6,99 (1 H, d, CH).

20 Intermedio 4: 1-(Fenilsulfonyl)-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-carbaldehído

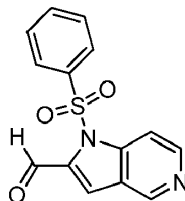
- 25 A una solución de diisopropilamina (4,13 ml, 0,029 mol) en tetrahidrofurano anhidro (THF) (50 ml) agitado en una atmósfera de nitrógeno a -78 °C se le añadió nBuLi (10,42 ml, 0,026 mol) durante 15 min. La mezcla de reacción se agitó a -78 °C durante 30 min, después se calentó a t.a. y se agitó durante 1 h. A esta solución de LDA en tetrahidrofurano anhidro (THF) (250 ml) agitado en una atmósfera de nitrógeno a -30 °C se le añadió gota a gota una solución de 1-(fenilsulfonyl)-1H-pirrolo[2,3-b]piridina (5 g, 19,36 mmol) y TMEDA (4,38 ml, 29,0 mmol) en tetrahidrofurano (THF) (150 ml) durante 15 min. La mezcla de reacción se agitó a -30 °C durante 2,5 h, después se añadió gota a gota DMF (3 ml, 38,7 mmol) durante 1 min. La mezcla de reacción se agitó a -30 °C durante 2 h más,
 30 y el análisis por TLC y LC-MS mostró una conversión completa. La mezcla de reacción se inactivó con agua y se repartió entre diclorometano (700 ml) y agua (100 ml). La fase orgánica se lavó con agua (3 x 100 ml), se secó sobre sulfato sódico y se evaporó al vacío para dar el producto en bruto en forma de un sólido de color amarillo. Éste se purificó por recristalización (EtOAc y PE) para dar el producto deseado - 1-(fenilsulfonyl)-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-carbaldehído (4,8 g, 78 %) en forma de un sólido de color amarillo. 1 H RMN (DMSO-d₆): 10,45 (1 H, s, CH), 8,58 (1
 35 H, dd, CH), 8,24-8,16 (3H, m, CH), 7,74 (1 H, t, CH), 7,66-7,58 (3H, m, CH), 7,41 (1H, dd, CH).

Intermedio 5: 1-(Fenilsulfonyl)-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-2-carbaldehído

- 40 Preparado de forma similar al intermedio 4 partiendo de 1-(fenilsulfonyl)-1H-pirrolo[2,3-c]piridina.

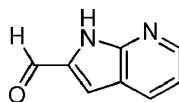
¹H RMN (DMSO-d₆): 10,43 (1 H, s, CH), 8,68 (1 H, dd, CH), 8,55 (1 H, d, CH), 8,02 (2H, dd, CH), 7,76-7,72 (2H, m, CH), 7,62-7,56 (3H, m, CH).

Intermedio 6: 1-(Fenilsulfonyl)-1H-pirrol[3,2-c]piridin-2-carbaldehído



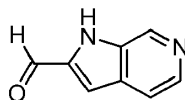
Preparado de forma similar al intermedio 4 partiendo de 1-(fenilsulfonyl)-1H-pirrol[3,2-c]piridina LCMS (Método D): Tr = 1,39 min, MH⁺ = 286,9.

Intermedio 7: 1 1H-Pirrol[2,3-b]piridin-2-carbaldehído



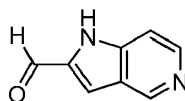
A una solución de 1-(fenilsulfonyl)-1H-pirrol[2,3-b]piridin-2-carbaldehído (2,5 g, 8,73 mmol) en metanol (50 ml) agitado en una atmósfera de nitrógeno a t.a. se le añadió gota a gota una solución de KOH (1,96 g, 34,9 mmol) en agua (5 ml) durante 1 min. La mezcla de reacción se agitó a t.a. durante 30 min, y el análisis por TLC mostró una conversión completa. La mezcla de reacción se diluyó con H₂O (150 ml), se extrajo con diclorometano (3 x 150 ml) y la fase orgánica se lavó con salmuera saturada (3 x 50 ml), agua 100 ml, se secó sobre sulfato sódico y se evaporó al vacío para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (1 g, rendimiento del 54,9 %) que se usó en la siguiente reacción sin purificación adicional. ¹H RMN (DMSO-d₆): 12,51 (1 H, s a, NH), 9,90 (1 H, s, CH), 8,48 (1 H, dd, CH), 8,21 (1 H, d, CH), 7,41 (1 H, s, CH), 7,20 (1 H, dd, CH).

Intermedio 8: 1H-Pirrol[f2,3-c]piridin-2-carbaldehído



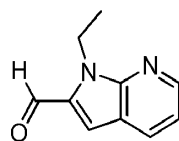
Preparado de forma similar al intermedio 7 partiendo de 1-(fenilsulfonyl)-1H-pirrol[2,3-c]piridin-2-carbaldehído. ¹H RMN(DMSO-d₆): 12,40 (1 H, s a, NH), 9,99 (1 H, s, CH), 8,87 (1 H, s, CH), 8,19 (1 H, d, CH), 7,74 (1 H, dd, CH), 7,42 (1 H, s, CH).

Intermedio 9: 1H-Pirrol[3,2-c]piridin-2-carbaldehído



Preparado de forma similar al intermedio 7 partiendo de 1-(fenilsulfonyl)-1H-pirrol[3,2-c]piridin-2-carbaldehído. ¹H RMN (DMSO-d₆): 12,34 (1 H, s a, NH), 9,94 (1 H, s, CH), 9,07 (1 H, s, CH), 8,34 (1 H, d, CH), 7,57 (1 H, s, CH), 7,41 (1 H, d, CH).

Intermedio 10: 1-Etil-1H-pirrol[2,3-b]piridin-2-carbaldehído



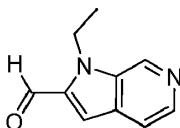
A una suspensión de 1H-pirrol[2,3-b]piridin-2-carbaldehído (700 mg, 4,79 mmol) y Cs₂CO₃ (3121 mg, 9,58 mmol) en N,N-dimetilformamida (DMF) (20 ml) agitada en una atmósfera de nitrógeno a 20 °C, se le añadió gota a gota yodoetano (0,581 ml, 7,18 mmol) durante 0,5 min. La mezcla de reacción se agitó a t.a. durante 1 h, y el análisis por TLC mostró una conversión completa.

En una reacción separada: A una suspensión de 1 H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-carbaldehído (600 mg, 4,11 mmol) y Cs_2CO_3 (2675 mg, 8,21 mmol) en N,N-Dimetilformamida (DMF) (20 ml) agitada en una atmósfera de nitrógeno a 20 °C se le añadió gota a gota yodoetano (0,498 ml, 6,16 mmol) durante 0,5 min. La mezcla de reacción se agitó a t.a. durante 1 h, y el análisis por TLC mostró una conversión completa.

Las mezclas de reacción combinadas se inactivaron con agua, se repartieron entre diclorometano (100 ml) y agua (50 ml). La fase de agua se extrajo con diclorometano (3 x 100 ml). La fase orgánica se lavó con salmuera saturada (3 x 50 ml), se secó sobre sulfato sódico y se evaporó al vacío para dar el producto en bruto en forma de un aceite de color amarillo. El producto en bruto se purificó por una columna de gel de sílice (Hex/EtOAc, 10/1) para dar el compuesto del título (511 mg, 32 %).

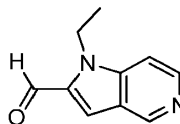
LCMS (Método E): Tr = 1,45 min, MH^+ = 175,1.

Intermedio 11: 1-Etil-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-2-carbaldehído



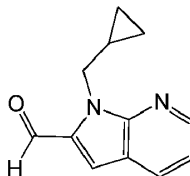
Preparado de forma similar al intermedio 10 partiendo de 1H-pirrolo[2,3-c]piridin-2-carbaldehído GCMS: Tr = 14,32 min, M^+ = 174.

Intermedio 12: 1-Etil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-2-carbaldehído



Preparado de forma similar al intermedio 10 partiendo de 1H-pirrolo[3,2-c]piridin-2-carbaldehído. LCMS (Método E): Tr = 0,61 min, MH^+ = 175,1.

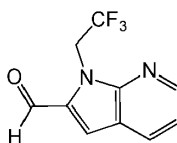
Intermedio 13: 1-(Ciclopropilmetil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-carbaldehído



Una solución de hidruro sódico (60,2 mg, 1,51 mmol) en N,N-dimetilformamida (20 ml) se agitó a 0 °C durante 10 min. Se añadió 1 H-Pirrolo[2,3-b]piridin-2-carbaldehído (200 mg, 1,37 mmol) y la mezcla se agitó a 0 °C durante 30 min y a t.a. durante 30 min. Se añadió (bromometil)ciclopropano (0,16 ml, 1,64 mmol, disponible, por ejemplo, en Alfa Aesar) y la mezcla resultante se agitó a 0 °C durante 30 min y a t.a. durante 21 h. La mezcla de reacción se interrumpió mediante la adición de agua (50 ml). Después de la adición de Et_2O (50 ml), las fases se separaron. La capa acuosa se extrajo adicionalmente con Et_2O (2 x 50 ml) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con H_2O (2 x 35 ml). La fase orgánica se secó a través de una frita hidrófoba y se concentró a presión reducida para dar un aceite de color pardo que se cargó en DCM en un cartucho de sílice de 50 g de SNAP y se purificó por SP4, eluyendo con un gradiente de acetato de etilo al 0-20 %/ciclohexano (15 VC). Las fracciones apropiadas se combinaron y se evaporaron a presión reducida para dar el producto requerido 1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-carbaldehído (201 mg, 73,4 %) en forma de un aceite incoloro.

LCMS (Método B): Tr = 0,99 min, MH^+ = 201,0

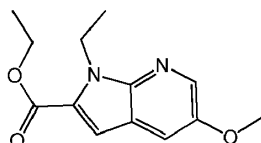
Intermedio 14: 1-(2,2,2-Trifluoroetil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-carbaldehído



Se añadió 1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-carbaldehído (1,8 g, 12,32 mmol) a una solución de hidruro sódico (0,54 g, 13,55 mmol) en N,N-dimetilformamida (50 ml) a t.a. en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se dejó en

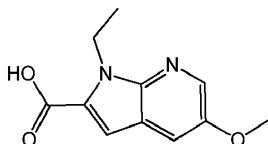
agitación durante 1 h antes de que se enfriase la mezcla de reacción a 0 °C y se añadió gota a gota trifluorometanosulfonato de 2,2,2-trifluoroetil (2,04 ml, 14,78 mmol disponible, por ejemplo, en Sigma Aldrich). La mezcla de reacción se agitó durante 1 h a 0 °C y durante 14 h a ta en una atmósfera de nitrógeno. La reacción se interrumpió mediante la adición de agua (150 ml). Después de la adición de Et₂O (150 ml), las fases se separaron. La capa acuosa se extrajo adicionalmente con Et₂O (3 x 150 ml) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con H₂O. Las fases de agua combinadas se extrajeron con Et₂O (150 ml). Las capas orgánicas recogidas se combinaron, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se cargó en diclorometano en dos cartuchos de sílice de 100 g SNAP y se purificó por SP4, eluyendo con gradiente de acetato de etilo al 0-30 %/ciclohexano. Las fracciones apropiadas se combinaron y se evaporaron a presión reducida para dar el producto requerido 1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-pirrol[2,3-b]piridin-2-carbaldehído (2,6 g, 11,39 mmol, rendimiento del 93 %) en forma de un sólido de color blanco. LCMS (Método B): Tr = 0,92 min, MH⁺ = 229,14.

Intermedio 15: 1-Etil-5-metoxi-1H-pirrol[2,3-b]piridin-2-carboxilato de etilo



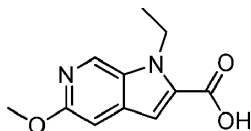
A una solución de 5-metoxi-1H-pirrol[2,3-b]piridin-2-carboxilato de etilo (150 mg, 0,68 mmol disponible, por ejemplo, en Shanghai Haoyuan Chemexpress Co., Ltd) en DMSO (4 ml) se le añadió hidróxido potásico en polvo (115 mg, 2,04 mmol) seguido de bromoetano (0,071 ml, 0,95 mmol). La mezcla se agitó a ta durante 2 h, después se añadió más cantidad de bromoetano (0,020 ml) y la mezcla se agitó durante 18 h más. La reacción se interrumpió mediante la adición de agua y después se repartió entre agua y éter dietílico. La fase orgánica se lavó con agua, después se pasó a través de una frita hidrófoba y finalmente se concentró a presión reducida para dar el producto en forma de un aceite de color naranja/pardo. El material en bruto se purificó con cromatografía en columna (eluida con DCM y acetato de etilo del 0 al 10 %) para dar el compuesto del título en forma de un aceite transparente (60 mg, 36 %). LCMS (Método C): MH⁺ = 249,1, Tr = 1,15 min

Intermedio 16: Ácido 1-etil-5-metoxi-1H-pirrol[2,3-b]piridin-2-carboxílico

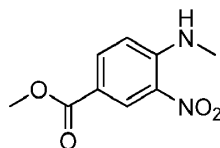


A una solución de 1-etil-5-metoxi-1H-pirrol[2,3-b]piridin-2-carboxilato de etilo (60 mg, 0,24 mmol) en THF (2 ml) y MeOH (0,5 ml) se le añadió hidróxido de litio (35 mg, 1,45 mmol) en agua (2 ml). Se formó una solución turbia que se volvió transparente después de 30 s. La mezcla de reacción se dejó en reposo a temperatura ambiente durante 18 h y después se concentró en una corriente de nitrógeno. Al producto en bruto se le añadió HCl 2 M (2 ml, acuoso) y el sólido resultante se filtró y después se secó a presión reducida para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanquecino (32 mg, 60 %). LCMS (Método C): Tr = 0,80 min, MH⁺ = 221,1

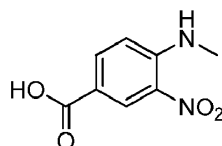
Intermedio 17: Ácido 1-etil-5-metoxi-1H-pirrol[2,3-c]piridin-2-carboxílico



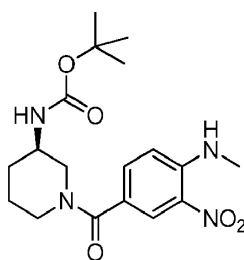
A una solución de ácido 5-metoxi-1H-pirrol[2,3-c]piridin-2-carboxílico (500 mg, 2,60 mmol) (disponible, por ejemplo, en Activate Scientific GmbH) en dimetilsulfóxido (DMSO) (5 ml) se le añadieron hidróxido potásico (438 mg, 7,81 mmol) y bromoetano (0,427 ml, 5,72 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 18 h antes de añadir más cantidad de hidróxido potásico (120 mg) y bromoetano (0,13 ml). Después de agitar durante 4 h más, la mezcla de reacción se mantuvo en una atmósfera de nitrógeno durante aprox. 66 h. Después, se repartió entre agua y éter dietílico. Las capas se separaron y la capa acuosa se lavó con éter dietílico. El producto acuoso se acidificó a pH = 3, y se extrajo con acetato de etilo (dos veces). Los extractos de acetato de etilo combinados se lavaron con agua y se concentraron al vacío para producir el compuesto del título en forma de un sólido de color beige pálido (148 mg). LCMS (Método C): Tr = 0,46 min, MH⁺ = 221

Intermedio 18: 4-(Metilamino)-3-nitrobenzoato de metilo

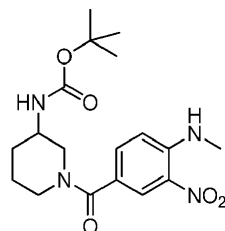
- 5 Se añadió metilamina (2 M en THF) (23,19 ml, 46,4 mmol) a una solución de 4-cloro-3-nitrobenzoato de metilo (5 g, 23,19 mmol) (disponible, por ejemplo, en Lancaster Synthesis Ltd.) en N,N-dimetilformamida (DMF) (8 ml) a ta en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se calentó a 80 °C y se agitó durante una noche. El análisis por LCMS mostró el producto pico mayor, pero la reacción no se había completado. Se añadió más cantidad de metilamina (2 M en THF, 10 ml) y la reacción se calentó a 90 °C durante 6 h. Se añadió más cantidad de metilamina (2 M en THF, 6 ml) y la reacción se agitó durante 1 h a ta y durante 72 h a 70 °C. Se añadió más cantidad de metilamina (2 M en THF, 10 ml) y la reacción se calentó a 80 °C durante 3 h. La reacción se dejó enfriar a ta y después el producto se precipitó mediante la adición de agua (50 ml). La suspensión resultante se enfrió a 0 °C y después se filtró. El residuo se lavó con más cantidad de agua (3 x 25 ml) y se dejó secar sobre la almohadilla filtrante durante ~15 min. El sólido se recogió y se secó al vacío para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (4,54 g, 21,60 mmol, rendimiento del 93 %).
- 15 LCMS (Método B): Tr = 0,69 min, MH⁺ = 197,2

Intermedio 19: Ácido 4-(metilamino)-3-nitrobenzoico

- 20 Se disolvió 4-(metilamino)-3-nitrobenzoato de metilo (1,82 g, 8,66 mmol) en una relación 1:1 de tetrahidrofurano (THF) (41,4 ml) y agua (41,4 ml). A esto se le añadió hidróxido de litio (1,817 g, 43,3 mmol) y la reacción se agitó a t.a. durante 16 h. La mezcla de reacción se enfrió a 0 °C y se acidificó mediante la adición de HCl 5 M (-20 ml, hasta que el pH alcanzó ~5) - se formó un precipitado de color amarillo brillante, la suspensión se filtró y el residuo se lavó con H₂O destilada (2 x 30 ml). El residuo se recogió y se secó al vacío a 50 °C para proporcionar el producto en forma de un sólido de color amarillo (1,43 g, 7,29 mmol, rendimiento del 84 %). Éste se usó sin purificación adicional en las siguientes reacciones.
- 25 LCMS (Método B): Tr = 0,92 min, MH⁺ = 211

Intermedio 20: (1-(4-(metilamino)-3-nitrobenzoyl)piperidin-3-il)carbamato de (R)-terc-butilo

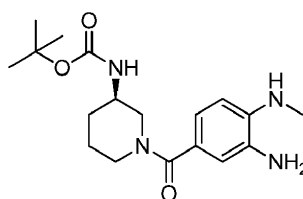
- 35 A una solución de piperidin-3-ilcarbamato de (R)-terc-butilo (1,460 g, 7,29 mmol) (disponible, por ejemplo, en Apollo Scientific Ltd), ácido 4-(metilamino)-3-nitrobenzoico (1,43 g, 7,29 mmol) y HATU (2,77 g, 7,29 mmol) en N,N-dimetilformamida (DMF) (50 ml) se le añadió DIPEA (2,55 ml, 14,58 mmol) y la reacción se agitó a t.a. durante 16 h. Se añadieron agua (200 ml) y Et₂O (200 ml) y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con más cantidad de Et₂O (2 x 200 ml) y los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua (2 x 50 ml), se secaron (Na₂SO₄) y se concentraron al vacío para proporcionar un aceite de color amarillo claro. El producto en bruto se purificó sobre sílice (100 g) usando un gradiente de EtOAc al 40 %/ciclohexano → acetato de etilo al 100 %/ciclohexano. Las fracciones apropiadas se combinaron y se evaporaron al vacío para dar el producto del título en forma de un sólido de color naranja-oro (2,76 g, 7,29 mmol, rendimiento del 100 %).
- 40 LCMS (Método B): Tr = 0,96 min, MH⁺ = 379,3

Intermedio 21: (1-(4-(Metilamino)-3-nitrobenzoyl)piperidin-3-il)carbamato de *tert*-butilo

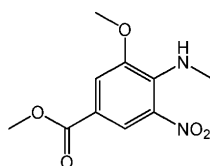
- 5 Preparado de forma similar al intermedio 20 a partir de piperidin-3-ilcarbamato de *tert*-butilo (disponible, por ejemplo, en Apollo Scientific Ltd) y ácido 4-(metilamino)-3-nitrobenzoico.
LCMS (Método B): Tr = 0,96 min, MH⁺ = 379,2

Intermedio 22: (1-(3-Amino-4-(metilamino)benzoyl)piperidin-3-il)carbamato de (R)-*tert*-butilo

10



- 15 Se disolvió (1-(4-(metilamino)-3-nitrobenzoyl)piperidin-3-il)carbamato de (R)-*tert*-butilo (3,79 g, 10,02 mmol) en etanol (75 ml) y se añadió a un matraz de hidrogenación enjuagado que contenía Pd/C (380 mg, 0,411 mmol). La mezcla resultante se lavó abundantemente con nitrógeno/vacío 3 veces, después se agitó en una atmósfera de hidrógeno a temperatura ambiente durante 24 horas. La mezcla de reacción se lavó abundantemente a partir de una atmósfera de hidrógeno con nitrógeno/vacío tres veces. A esta solución Celite (33 g) se le añadió y se agitó durante 2 min y después se filtró al vacío. La solución se concentró al vacío para dar un producto en bruto que se purificó en un cartucho de 100 g SNAP usando cromatografía en columna SP4. La columna se eluyó con NH₃ 2 M al 0-6 % en MeOH en DCM durante 25 VC. Las fracciones apropiadas se combinaron y se concentraron al vacío para dar un producto que se purificó adicionalmente usando cromatografía en columna SP4 en un cartucho de 100 g SNAP. La columna se eluyó con EtOAc al 0-100 % en ciclohexano durante 15 VC seguido de EtOAc al 100 % 5 VC seguido de NH₃ 2 M al 0-6 % en MeOH en DCM durante 15 VC. Las fracciones apropiadas se combinaron y se concentraron al vacío para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color rosa (1,26 g).
- 20
- 25 LCMS (Método B): Tr = 0,70 min, MH⁺ = 349,1

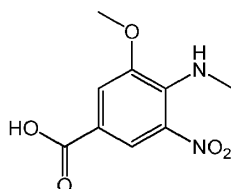
Intermedio 23: 3-Metoxi-4-(metilamino)-5-nitrobenzoato de metilo

30

- Se disolvió 4-cloro-3-metoxi-5-nitrobenzoato de metilo (disponible, por ejemplo, en Apollo Scientific Ltd) (14 g, 57,0 mmol) en N,N-dimetilformamida (DMF) (140 ml) y se enfrió a ~0 °C en un baño de hielo/agua. Se añadió gota a gota metanamina (2 M en THF) (114 ml, 228 mmol) con agitación vigorosa usando un embudo de adición por goteo y la mezcla se lavó abundantemente con nitrógeno y se calentó a 80 °C durante 3 h. La mezcla se dejó enfriar a temperatura ambiente durante el fin de semana. La mezcla de reacción se diluyó con agua (500 ml), y se filtró al vacío para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color naranja (13,69 g).
- 35
- LCMS (Método A): Tr = 1,04 min, MH⁺ = 241,05

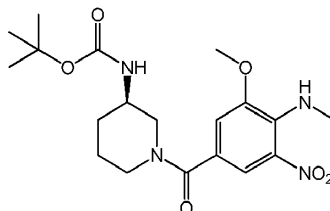
Intermedio 24: Ácido 3-metoxi-4-(metilamino)-5-nitrobenzoico

40



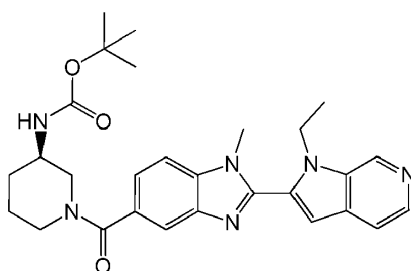
A una solución de 3-metoxi-4-(metilamino)-5-nitrobenzoato de metilo (13,69 g, 57,0 mmol) en tetrahidrofurano (THF) (100 ml) y agua (50,0 ml) se le añadió una porción individual de hidróxido de litio (4,09 g, 171 mmol). La suspensión resultante se agitó durante 19 h a temperatura ambiente. La reacción se acidificó con HCl 2 N ac. (~50 ml), hasta que el pH alcanzó ~4. La suspensión resultante se filtró y el sólido de color naranja se secó en la línea de alto vacío durante una noche para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color naranja (11,09 g).
LCMS (Método A): Tr = 0,51 min, MH⁺ = 227,0

Intermedio 25: (1-(3-metoxi-4-(metilamino)-5-nitrobenzoyl)piperidin-3-il)carbamato de (R)-terc-butilo



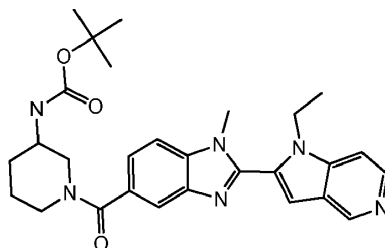
A una solución de ácido 3-metoxi-4-(metilamino)-5-nitrobenzoico (11,09 g, 49,0 mmol) y HATU (18,64 g, 49,0 mmol) en N,N-dimetilformamida (DMF) (300 ml) se le añadió DIPEA (17,13 ml, 98 mmol) y la mezcla se agitó durante 30 min. Después de la adición de DIPEA la mezcla se volvió turbia después de ~1 min con agitación. Después, se añadió piperidin-3-ilcarbamato de (R)-terc-butilo (9,82 g, 49,0 mmol) y se agitó durante 1,5 h, tiempo después del cual el análisis por LCMS mostró que la reacción estaba completa. En 5 ml de la mezcla de reacción se añadió una solución ac. sat. de LiCl (5 ml) y Et₂O (10 ml) y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo de nuevo con Et₂O (2 x 10 ml), los productos orgánicos combinados se lavaron de nuevo con agua (10 ml), se secaron con Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron al vacío para dar el producto en bruto en forma de una goma de color naranja. La goma se disolvió en la cantidad mínima de DCM y se purificó por columna Si SNAP de 25 g usando acetato de etilo al 50-100 %/ciclohexano. Las fracciones apropiadas se combinaron, se evaporaron al vacío antes de destilarse azeotrópicamente con ciclohexano y se secaron al vacío para dar el producto requerido, 281 mg en forma de un sólido de color naranja. La mezcla de reacción restante se concentró al vacío para retirar parte de la DMF. Se añadieron una solución ac. saturada de LiCl (300 ml) y Et₂O (700 ml) y la mezcla se separó. La capa acuosa se extrajo de nuevo con Et₂O (2 x 700 ml), las capas orgánicas combinadas se lavaron de nuevo con agua (1 l), se secaron con Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron al vacío para dar el producto en bruto en forma de una goma de color naranja. Ésta se purificó en un cartucho de sílice de 340 g SNAP eluyendo con acetato de etilo al 30 %-60 % en ciclohexano. Las fracciones apropiadas se combinaron y se concentraron al vacío para producir el compuesto del título en forma de un sólido de color naranja (19,4 g).
LCMS: (Método B): Tr = 1,02 min, MH⁺ = 409,1

Intermedio 26: (1-(2-(1-etil-1H-pirrol[2,3-c]piridin-2-il)-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-carbonil)piperidin-3-il)carbamato de (R)-terc-butilo



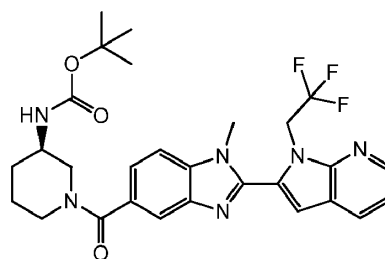
Se añadió hidrosulfito sódico (162 mg, 0,793 mmol) disuelto en agua (1 ml) a una solución de (1-(4-(metilamino)-3-nitrobenzoyl)piperidin-3-il)carbamato de (R)-terc-butilo (100 mg, 0,264 mmol) y 1-etil-1H-pirrol[2,3-c]piridin-2-carbaldehído (46,0 mg, 0,264 mmol) en etanol (2 ml) a TA en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se calentó a 100 °C en un microondas durante 5 h. La mezcla de reacción se diluyó con DCM (20 ml), sulfato sódico se añadió y la suspensión resultante se filtró y se concentró al vacío para producir el producto en bruto. Éste se purificó por Biotage SP4 en un cartucho de sílice SNAP de 10 g usando un gradiente de (MeOH al 20 %/DCM) al 0 %/DCM → (MeOH al 20 %/DCM) al 50 %/DCM. Las fracciones apropiadas se combinaron y se evaporaron al vacío para dar el compuesto del título (42 mg).
LCMS (Método A): Tr = 0,71 min, MH⁺ = 503,3

Intermedio 27: (1-(2-(1-etil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-2-il)-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-carbonil)piperidin-3-il)carbamato de *terc*-butilo



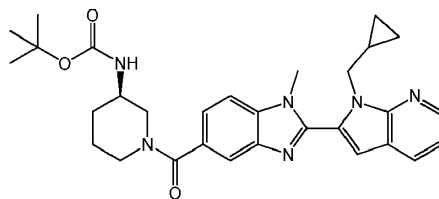
- 5 Se añadió hidrosulfito sódico (277,4 mg, 1,275 mmol) disuelto en agua (1,5 ml) a una solución agitada de (1-(4-(metilamino)-3-nitrobenzoyl)piperidin-3-il)carbamato de *terc*-butilo (143,2 mg, 0,378 mmol) y 1-etil-1H-pirrolo[3,2-c]piridin-2-carbaldehído (67,6 mg, 0,388 mmol) en etanol (3,5 ml) a temperatura ambiente en un vial para microondas de 5 ml. Después, la mezcla de reacción se calentó en un microondas durante 5 h a 100 °C. A la mezcla de reacción se le añadió metanol y se secó usando Na₂SO₄. Después, la mezcla de reacción se filtró por gravedad a través de una frita hidrófoba y el eluyente se recogió y se concentró al vacío. El producto en bruto se disolvió en un volumen mínimo de DCM y se purificó usando SP4 en un cartucho de sílice de 25 g SNAP. El cartucho se eluyó usando un gradiente de metanol al 0-100 % 20 % en DCM/DCM. Las fracciones apropiadas se recogieron y se concentraron al vacío para dar el compuesto del título en forma de un aceite de color amarillo (76 mg).
- 10
- 15 LCMS (Método B): Tr = 0,71 min, MH⁺ = 503,2

Intermedio 28: (1-(1-metil-2-(1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-1H-benzo[d]imidazol-5-carbonil)piperidin-3-il)carbamato de (R)-*terc*-butilo



- 20 A una mezcla de (1-(4-(metilamino)-3-nitrobenzoyl)piperidin-3-il)carbamato de (R)-*terc*-butilo (2,1 g, 5,55 mmol) y 1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-carbaldehído (1,3 g, 5,70 mmol) en etanol (55 ml) se le añadió en porciones una solución de hidrosulfito sódico (3,41 g, 16,65 mmol) en agua (25 ml). La mezcla se lavó abundantemente con nitrógeno y se calentó a 90 °C durante una noche durante 17 horas. La mezcla de reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente y el disolvente se evaporó al vacío. Al residuo se le añadió DCM y la solución heterogénea se secó sobre sulfato sódico. El sólido se retiró por filtración y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se cargó en diclorometano y se purificó por SP4 SNAP en 2 columnas de sílice (Si) de 100 g usando un gradiente inicial de 25-80 % (15 VC) seguido de (10 VC) acetato de etilo al 80-100 %/ciclohexano. Las fracciones apropiadas se combinaron y se evaporaron al vacío para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo pálido (1,934 g).
- 25
- 30 LCMS (Método B): Tr = 1,09 min, MH⁺ = 557,5

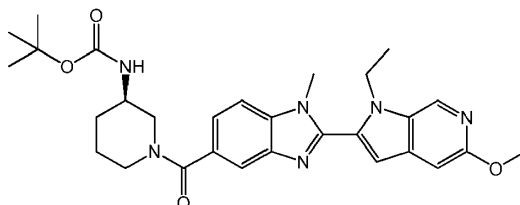
Intermedio 29: (1-(2-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-carbonil)piperidin-3-il)carbamato de (R)-*terc*-butilo



- 40 Se añadió una solución de 1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-carbaldehído (2 g, 8,99 mmol) en etanol (90 ml) en un matraz de fondo redondo que contenía (1-(4-(metilamino)-3-nitrobenzoyl)piperidin-3-il)carbamato de (R)-*terc*-butilo (3,4 g, 8,98 mmol) y la solución resultante se agitó a temperatura ambiente. A la mezcla de reacción se le añadió en porciones una solución de ditionita sódica (3,14 g, 15,33 mmol) en agua (45 ml). La mezcla de reacción se calentó a 100 °C y se agitó en una atmósfera de nitrógeno durante 4 horas. La mezcla de reacción se concentró al vacío y después se diluyó con DCM (150 ml) y agua (150 ml). La capa orgánica se recogió y la capa

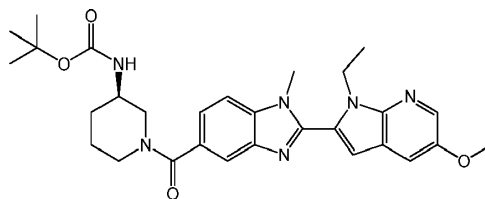
acuosa se lavó con DCM (3 x 100 ml). Las capas orgánicas se recogieron y se lavaron de nuevo con agua (2 x 100 ml). La capa orgánica se recogió, se secó con Na₂SO₄, se filtró a través de una frita hidrófoba y se concentró al vacío para producir un producto en bruto. Éste se disolvió en un volumen mínimo de DCM y se purificó usando Biotage SP4 en un cartucho de sílice de 100 g SNAP. La columna se eluyó con un gradiente de acetato de etilo al 70-100 % en DCM durante 10 VC. Las fracciones apropiadas se recogieron y se concentraron al vacío. Esto se secó al vacío para producir el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (1,867 g). LCMS (Método B): Tr = 1,08 min, MH⁺ = 529,4

Intermedio 30: (1-(2-(1-etil-5-metoxi-1H-pirrol-2-yl)-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-carbonil)piperidin-3-il)carbamato de (R)-terc-butilo



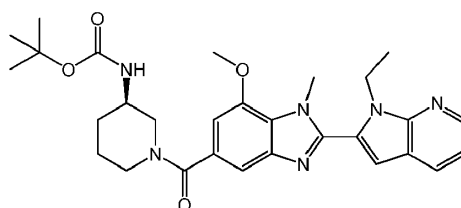
Se disolvieron ácido 1-etil-5-metoxi-1H-pirrol-2-carboxílico (200 mg, 0,908 mmol, indicado en el documento WO 2010/118208) y HATU (380 mg, 0,999 mmol) en DMF (2 ml) y se agitaron a ta durante 5 min. A esto se le añadió una solución de (1-(4-(metilamino)-3-nitrobenzoil)piperidin-3-il)carbamato de (R)-terc-butilo (316 mg, 0,908 mmol) y DIPEA (0,476 ml, 2,72 mmol) en DMF (2 ml), y la mezcla resultante se agitó en una atmósfera de nitrógeno a ta durante 3,5 h. La mezcla de reacción se diluyó con agua (40 ml) y se repartió con éter (50 ml). La capa orgánica se aisló y después la capa acuosa se extrajo de nuevo con éter (2 x 50 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (2 x 30 ml), después se secaron sobre sulfato sódico, después se pasaron a través de una frita hidrófoba y se concentraron a presión reducida para dar el intermedio de amida en bruto en forma de un sólido de color azul. El sólido se secó a presión reducida durante una noche y después se disolvió en tolueno (12,5 ml). A la mezcla de reacción se le añadió ácido acético (0,052 ml, 0,908 mmol) que se calentó a reflujo durante 5 h. A la mezcla de reacción se le añadió bicarbonato sódico (40 ml) y la capa orgánica se aisló. La capa acuosa se extrajo de nuevo con tolueno (2 x 40 ml) y las capas orgánicas combinadas se concentraron a presión reducida para dar 238 mg del producto en bruto en forma de una goma de color rojo-pardo. El material en bruto se purificó con cromatografía en columna (eluida con EtOAc al 100 %) y después se purificó adicionalmente por MDAP de alto pH (Método E) para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanquecino (106 mg, 22 %). LCMS (Método A): MH⁺ = 533,4, Tr = 1,06 min

Intermedio 31: (1-(2-(1-etil-5-metoxi-1H-pirrol-2-yl)-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-carbonil)piperidin-3-il)carbamato de (R)-terc-butilo



Preparado de forma similar al intermedio 30 partiendo de ácido 1-etil-5-metoxi-1H-pirrol-2-carboxílico. LCMS (Método A): Tr = 1,10 min, MH⁺ = 533,3

Intermedio 32: (1-(2-(1-etil-1H-pirrol-2-yl)-7-metoxi-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-carbonil)piperidin-3-il)carbamato de (R)-terc-butilo

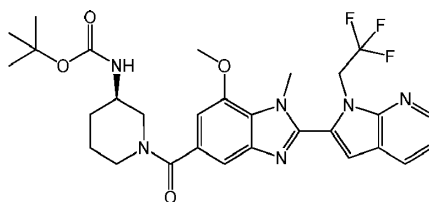


A una solución de (1-(3-metoxi-4-(metilamino)-5-nitrobenzoil)piperidin-3-il)carbamato de (R)-terc-butilo (4,5 g, 11,02 mmol) y 1-etil-1H-pirrol-2-carbaldehído (2,015 g, 11,57 mmol) en etanol (100 ml) se le añadió en porciones una solución de ditionita sódica (4,25 g, 20,75 mmol) en agua (50 ml). La mezcla se lavó abundantemente

con nitrógeno y después se calentó a 100 °C durante una noche (16 horas). La mezcla de reacción se concentró al vacío y después se diluyó con DCM (150 ml) y agua (150 ml). La capa orgánica se recogió y la capa acuosa se lavó con DCM (3 x 100 ml). Las capas orgánicas se combinaron, se lavaron de nuevo con agua (3 x 150 ml), se recogieron, se secaron con Na₂SO₄, se filtraron a través de una frita hidrófoba y se concentraron al vacío para producir 5,5 g de producto en bruto en forma de un sólido de color blanco. El producto en bruto se disolvió en un volumen mínimo de DCM y se purificó usando Biotage SP4 en un cartucho de sílice SNAP de 100 g. La columna se eluyó con un gradiente de acetato de etilo al 70-100 % en DCM durante 10 VC. Las fracciones apropiadas se recogieron y se concentraron al vacío para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanco (4,40 g).

LCMS (Método B): Tr = 1,05 min, MH⁺ = 533,4

Intermedio 33: (1-(7-metoxi-1-metil-2-(1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-pirrol-2-il)-1H-benzo[d]imidazol-5-carbonil)piperidin-3-il)carbamato de (R)-terc-butilo

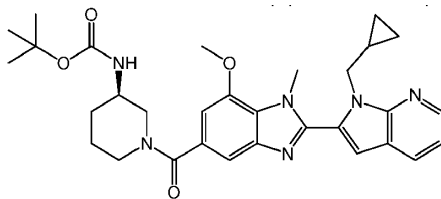


15

A una solución de (1-(3-metoxi-4-(metilamino)-5-nitrobenzoyl)piperidin-3-il)carbamato de (R)-terc-butilo (3,58 g, 8,76 mmol) y 1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-pirrol-2-carbaldehído (2,61 g, 11,44 mmol) en etanol (140 ml) se le añadió en porciones una solución de hidrosulfito sódico (3,18 g, 15,53 mmol) en agua (70 ml). La mezcla se lavó abundantemente con nitrógeno y después se calentó a 100 °C durante una noche (16 horas). La mezcla de reacción se concentró al vacío y después se diluyó con DCM (150 ml) y agua (150 ml). La capa orgánica se recogió y la capa acuosa se lavó con DCM (3 x 100 ml). Las capas orgánicas se recogieron, se secaron con Na₂SO₄, se filtraron a través de una frita hidrófoba y se concentraron al vacío para producir 5,5 g de producto en bruto en forma de un sólido de color blanco. Esto se disolvió en un volumen mínimo de DCM y se purificó usando Biotage SP4 en un cartucho de sílice de 100 g SNAP. La columna se eluyó con un gradiente de acetato de etilo al 70-100 % en DCM durante 10 VC. Las fracciones apropiadas se recogieron y se concentraron al vacío para producir el compuesto del título en forma de un sólido de color blanco (4,31 g).

LCMS (Método B): Tr = 1,17 min, MH⁺ = 587,4

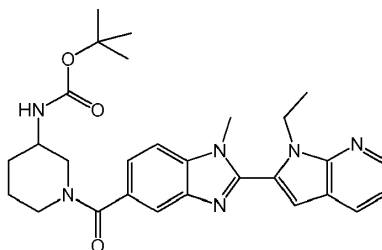
Intermedio 34: (1-(2-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrol-2-il)-7-metoxi-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-carbonil)piperidin-3-il)carbamato de (R)-terc-butilo



Se añadió una solución de 1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrol-2-carbaldehído (0,743 g, 3,71 mmol) en etanol (60 ml) en un matraz de fondo redondo que contenía (1-(3-metoxi-4-(metilamino)-5-nitrobenzoyl)piperidin-3-il)carbamato de (R)-terc-butilo (1,529 g, 3,74 mmol) y la solución resultante se agitó a temperatura ambiente. A la mezcla de reacción se le añadió una solución de ditionita sódica (1,375 g, 6,71 mmol) en agua (30 ml). La mezcla de reacción se calentó a 100 °C y se agitó en una atmósfera de nitrógeno durante 4 horas. La mezcla de reacción se concentró al vacío y después se diluyó con DCM (150 ml) y agua (150 ml). La capa orgánica se recogió y la capa acuosa se lavó con DCM (3 x 100 ml). Las capas orgánicas se recogieron, se secaron con Na₂SO₄, se filtraron a través de una frita hidrófoba y se concentraron al vacío para producir ~2 g de producto en bruto en forma de un sólido de color amarillo. Esto se disolvió en un volumen mínimo de DCM y se purificó usando Biotage SP4 en un cartucho de sílice de 50 g SNAP. La columna se eluyó con un gradiente de acetato de etilo al 70-100 % en DCM durante 10 VC. Las fracciones apropiadas se recogieron y se concentraron al vacío para producir el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (1,55 g).

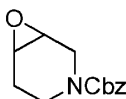
LCMS (Método B): Tr = 1,15 min, MH⁺ = 559,4

Intermedio 35: (1-(2-(1-etil-1H-pirrol-2-yl)-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-carbonil)piperidin-3-il)carbamato de *tert*-butilo



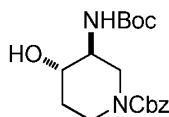
- 5 Se añadió hidrosulfito sódico (235 mg, 1,150 mmol) disuelto en agua (1,500 ml) a una solución de (1-(4-(metilamino)-3-nitrobenzoyl)piperidin-3-il)carbamato de *tert*-butilo (145 mg, 0,383 mmol) y 1-etil-1H-pirrol-2-carbaldehído (66,7 mg, 0,383 mmol) en etanol (3 ml) a TA en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se calentó a 100 °C en un microondas durante 5 h. La mezcla de reacción se diluyó con DCM (20 ml), se añadió
- 10 Na₂SO₄ y la suspensión resultante se filtró y se concentró al vacío para producir el producto en bruto en forma de un aceite de color amarillo. El producto en bruto se purificó por Biotage SP4 en un cartucho de sílice SNAP de 25 g usando un gradiente de (MeOH al 20 %/DCM) al 0 %/DCM → (MeOH al 20 %/DCM) al 100 %/DCM. Las fracciones apropiadas se combinaron y se evaporaron al vacío para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color
- 15 LCMS (Método B): Tr = 1,01 min, MH⁺ = 503,2

Intermedio 36: 7-oxa-3-azabicyclo[4.1.0]heptano-3-carboxilato de bencilo



- 20 Se añadió en porciones ácido 3-clorobenzoperoxiico (16,79 g, 97 mmol) en una atmósfera de nitrógeno a una solución agitada de 5,6-dihidropiridin-1(2H)-carboxilato de bencilo (15,1 g, 69,5 mmol) (disponible, por ejemplo, en Fluorochem) en diclorometano anhidro (DCM) (100 ml) enfriado usando un baño de hielo. La mezcla resultante se dejó alcanzar ta y se agitó durante 18 h. A la mezcla de reacción se le añadió agua (100 ml) y las fases se
- 25 repartieron. La capa orgánica se añadió gota a gota a una solución acuosa al 5 % agitada de NaS₂O₅ (200 ml). Al final de la adición, la mezcla se agitó durante 1 h más, después las fases se separaron y la capa acuosa se extrajo de nuevo con DCM (50 ml x 2). Los extractos orgánicos se combinaron y se lavaron con una solución acuosa al 5 % de K₂CO₃ (100 ml x 3) seguido de salmuera (100 ml). En esta fase, la prueba de peróxido mostró que aún había
- 30 25 mg/ml de peróxido en la capa orgánica. Por lo tanto, los productos orgánicos se añadieron a una solución agitada de NaS₂O₅(ac.) al 5 % (200 ml) y la mezcla bifásica resultante se agitó durante 1 h. La prueba de peróxido ahora mostró <0,5 mg/ml de peróxido. Las capas se separaron y la capa acuosa se lavó con más cantidad de DCM (2 x 50 ml). Después, los productos orgánicos combinados se secaron (Na₂SO₄) y se concentraron al vacío para
- 35 proporcionar el producto en bruto en forma de un aceite de color oro pálido. El producto en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice, (340 g de Si), eluyendo con EtOAc al 30->80 %/ciclohexano. Las fracciones apropiadas se combinaron y se concentraron al vacío para proporcionar el compuesto del título en forma de un aceite incoloro - bencilo 7-oxa-3-azabicyclo[4.1.0]heptano-3-carboxilato (12,75 g, 54,7 mmol, rendimiento del 79 %).
- LCMS (Método B): Tr = 0,88 min, MH⁺ = 234,2

Intermedio 37: 3-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-4-hidroxipiperidin-1-carboxilato de *trans*-bencilo



Se realizaron tres reacciones separadas en las mismas condiciones de reacción descritas a continuación. Cuando las cantidades de reactivo/disolvente varían, las cantidades específicas usadas se describen en la tabla. El material en bruto de las tres reacciones se combinó para la purificación como se indicó:

Reactivo/Disolvente:	Reacción 1	Reacción 2	Reacción 3
7-oxa-3-azabicyclo[4.1.0]heptano-3-carboxilato de bencilo (A)	4,37 g, 18,73 mmol	4,45 g, 19,08 mmol	3,94 g, 16,89 mmol
DCM (B)	120 ml	100 ml	100 ml
Trietilamina (C)	2,87 ml, 20,61 mmol	2,92 ml, 20,98 mmol	2,59 ml, 18,58 mmol
Boc ₂ O (D)	4,35 ml, 18,73 mmol	4,43 ml, 19,08 mmol	3,92 ml, 16,89 mmol

Una solución de 7-oxa-3-azabicyclo[4.1.0]heptano-3-carboxilato de bencilo (A) en una solución acuosa saturada al 25-30 % de hidróxido de amonio (150 ml, 3766 mmol) y etanol (100 ml) se agitó en una bomba de aleación HASTC a 70 °C durante 5 h. La mezcla de reacción se transfirió en un matraz de fr y se concentró al vacío a la mitad (Precaución: Se desprendió gran cantidad de NH₃). La solución resultante se diluyó con salmuera (50 ml) y los productos orgánicos se extrajeron en DCM (100 ml). Posteriormente, la capa acuosa se extrajo adicionalmente con MeOH al 10 %/DCM (3 x 50 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron (Na₂SO₄) y se concentraron al vacío para dar la amina primaria del intermedio en forma de un aceite de color amarillo. El residuo oleoso se diluyó con diclorometano (DCM) (B) y trietilamina (C) y se añadió gota a gota Boc₂O (D). La reacción se dejó en agitación durante 2 h. El análisis por LCMS mostró la reacción completa para dos productos regioméricos con Tr similar. La mezcla de reacción se inactivó con NH₄Cl (ac.) sat. (100 ml) y las capas se separaron. El producto acuoso se extrajo adicionalmente con DCM (2 x 75 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron a través de una frita hidrófoba y el disolvente se retiró al vacío para dar una goma de color blanco.

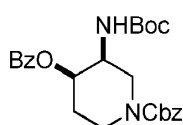
El material en bruto de las tres reacciones se combinó para la purificación: El residuo combinado se disolvió en DCM y se dividió en dos y se purificó por cromatografía en columna en dos cartuchos de sílice de 340 g, usando un gradiente de acetato de etilo al 0-100 %/ciclohexano. Las fracciones apropiadas se combinaron y se evaporaron al vacío para dar dos productos principales:

Primer pico de elución de columna: 4-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-3-hidroxipiperidin-1-carboxilato de *trans*-bencilo (10,492 g, 29,9 mmol, rendimiento del 59 %) en forma de un sólido de color blanco (regioisómero no deseado).

Segundo pico de elución de columna: 3-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-4-hidroxipiperidin-1-carboxilato de *trans*-bencilo (6,485 g, 18,51 mmol, rendimiento del 37 %) en forma de un sólido de color blanco (regioisómero deseado indicado anteriormente).

LCMS (Método B): Tr = 0,96 min, MH⁺ = 351,2

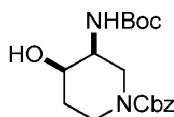
Intermedio 38: 4-(benzoiloxi)-3-((*tert*-butoxicarbonil)amino)piperidin-1-carboxilato de *cis*-bencilo

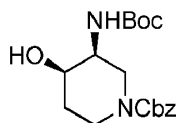
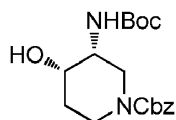


A una solución de trifenilfosfina (5,83 g, 22,24 mmol) en tetrahidrofurano (THF) (60 ml) se le añadió DIAD (4,38 ml, 22,24 mmol) y la mezcla se agitó en un baño de hielo-agua durante 15 min y después se dejó calentar a ta. A la suspensión se le añadió una suspensión de 3-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-4-hidroxipiperidin-1-carboxilato de *trans*-bencilo (6,495 g, 18,54 mmol) en tetrahidrofurano (THF) (75 ml) seguido de ácido benzoico (2,72 g, 22,24 mmol). La mezcla de reacción se aclaró hasta una solución de color amarillo y se agitó durante 2 h. El análisis por LCMS mostró la formación de producto, sin embargo, el pico de MP se ocultó por el subproducto por lo que fue difícil confirmar que la reacción se había completado. La reacción se dejó en agitación durante una noche (20 h). La mezcla de reacción se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía de sílice. El residuo se cargó en DCM en un cartucho de sílice de 340 g y se purificó usando un gradiente de EtOAc al 0-40 %/ciclohexano. Las fracciones apropiadas se combinaron y después se evaporaron al vacío para dar el producto en bruto 4-(benzoiloxi)-3-((*tert*-butoxicarbonil)amino)piperidin-1-carboxilato de *cis*-bencilo (8,11 g, 17,84 mmol, rendimiento del 96 %) en forma de un aceite de color amarillo pálido.

LCMS (Método B): Tr = 1,27 min, MH⁺ = 455,3.

Intermedio 39: 3-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-4-hidroxipiperidin-1-carboxilato de *cis*-bencilo



Intermedio 40: 3-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-4-hidroxipiperidin-1-carboxilato de (3*S*,4*R*)-bencilo5 Intermedio 41: 3-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-4-hidroxipiperidin-1-carboxilato de (3*R*,4*S*)-bencilo

10 Se añadió una solución de carbonato potásico (3,70 g, 26,8 mmol) en agua (80 ml) a una solución de 4-(benzoiloxi)-3-((*tert*-butoxicarbonil)amino)piperidin-1-carboxilato de *cis*-bencilo (8,11 g, 17,84 mmol) en etanol (160 ml) y la mezcla se agitó a 70 °C durante 20 h. La mezcla de reacción se concentró al vacío para dar 1/3 de volumen y la suspensión resultante se diluyó con agua (50 ml) y se extrajo usando DCM (3 x 70 ml). Los productos orgánicos recogidos se combinaron, se secaron (Na₂SO₄) y se concentraron al vacío para proporcionar el producto en bruto en forma de un aceite incoloro. Después, el producto en bruto se purificó por cromatografía en columna sobre un cartucho de sílice (340 g) usando un gradiente de acetato de etilo al 0-100 %/ciclohexano. Las fracciones apropiadas se combinaron y se evaporaron al vacío para dar el producto requerido 3-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-4-hidroxipiperidin-1-carboxilato de *cis*-bencilo (5,54 g, 15,81 mmol, rendimiento del 89 %) en forma de una espuma de color blanco.

LCMS (Método B): Tr = 0,98 min, MH⁺ = 351,2

20 1 g del producto racémico se sometió a cromatografía de purificación quiral usando el Método de HPLC quiral B. Los isómeros se resolvieron con éxito: El Isómero 1, se obtuvo en forma de un aceite incoloro - 3-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-4-hidroxipiperidin-1-carboxilato de (3*S*,4*R*)-bencilo (405 mg, 1,156 mmol, rendimiento del 6,48 %).

25 LCMS (Método B): Tr = 0,97 min, MH⁺ = 351,2

HPLC quiral (Método A): 100 % de e.e.

30 El Isómero 2, se obtuvo en forma de un aceite incoloro - 3-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-4-hidroxipiperidin-1-carboxilato de (3*R*,4*S*)-bencilo (411 mg, 1,173 mmol, rendimiento del 6,57 %).

LCMS (Método B): Tr = 0,99 min, MH⁺ = 351,2

HPLC quiral (Método A): 95 % de e.e.

35 Los 4,5 g restantes de racemato también se sometió a purificación quiral usando el Método de HPLC quiral C. Los isómeros se resolvieron con éxito:

Isómero 1, se obtuvo en forma de un aceite incoloro - 3-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-4-hidroxipiperidin-1-carboxilato de (3*S*,4*R*)-bencilo (1,94 g, 5,54 mmol, rendimiento del 31,0 %).

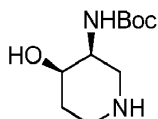
40 LCMS (Método B): Tr = 0,98 min, MH⁺ = 351,2

HPLC quiral (Método A): 98,7 % de e.e.

45 Isómero 2, obtenido en forma de un aceite incoloro - 3-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-4-hidroxipiperidin-1-carboxilato de (3*R*,4*S*)-bencilo (1,92 g, 5,48 mmol, rendimiento del 30,7 %).

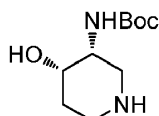
LCMS (Método B): Tr = 0,97 min, MH⁺ = 351,1

HPLC quiral (Método A): 96,3 % de e.e.

50 Intermedio 42: ((3*S*,4*R*)-4-hidroxipiperidin-3-il)carbamato de *tert*-butilo

Se añadió una solución de 3-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-4-hidroxipiperidin-1-carboxilato de (3*S*,4*R*)-bencilo (1,94 g, 5,54 mmol) en etanol (48 ml) en un matraz de hidrogenación que contenía Pd al 10 %/C (0,059 g, 0,554 mmol) que se había evacuado y se cargó de nuevo con N₂ (x 3). El matraz se evacuó de nuevo y después se llenó de nuevo con H₂ (x 3). Después, después se introdujo suficiente H₂ para permitir una reacción completa a una bureta y el sistema se cerró y el matraz se dejó en agitación en una atmósfera de H₂ durante una noche. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite y se lavó con EtOH (2 x 20 ml) y acetato de etilo (2 x 20 ml). El filtrado combinado se concentró al vacío para proporcionar el producto en forma de un sólido oleoso de color crema - ((3*S*,4*R*)-4-hidroxipiperidin-3-il)carbamato de *tert*-butilo (1,13 g, 5,22 mmol, rendimiento del 94 %). LCMS (Método B): Tr = 0,40 min, MH⁺ = 217,1

Intermedio 43: ((3*R*,4*S*)-4-hidroxipiperidin-3-il)carbamato de *tert*-butilo



Una solución de 3-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-4-hidroxipiperidin-1-carboxilato de bencilo (141 mg, 0,402 mmol) en metanol (8,05 ml) se hidrogenó usando el H-cube (ajustes: 25 °C, modo H₂ completo, 1 ml/min de caudal) y Pd al 10 %/C CatCart 30 como catalizador. El eluyente se evaporó al vacío para dar (4-hidroxipiperidin-3-il)carbamato de *tert*-butilo requerido (85,1 mg, 0,393 mmol, rendimiento del 98 %) en forma de un aceite transparente.

¹H RMN (DMSO-d₆, 393K): 5,60 (1 H, s a, NH), 3,77 (1 H, dt, CH), 3,45 (1 H, ddd, CH), 2,80 (1H, ddd, CH_AH_B), 2,72 (1H, dd, CH_AH_B), 2,63 (1H, dd, CH_AH_B), 2,55-2,48 (1H, osc., CH_AH_B), 1,59-1,53 (2H, m, CH₂), 1,42 (9H, s, 3 x CH₃).

Prueba de la estereoquímica absoluta para los Intermedios 42 y 43

La configuración absoluta de los intermedios 42 y 43 se asignó usando análisis VCD *ab initio*. El nivel de confianza para esta asignación se estimó en >99 %.

Análisis teórico:

- Búsqueda conformacional: Búsqueda estocástica MOE usando el campo de fuerza MMFF94x
- Química modelo: # opt freq=(noraman,vcd) b3lyp/dgdzvp
- Análisis conformacional: Poblaciones fraccionales estimadas usando estadísticas de Boltzmann
- Ancho de banda de Lorentz: 6 cm⁻¹
- Factor de escala de frecuencia: 0,975
- Estimación del límite de confianza: Análisis CompareVOA (BioTools, Inc.)

Experimental:

- Espectrómetro: Espectrómetro BioTools Chiral/R-2X FT-VCD operado a 4 cm⁻¹
- Rango de frecuencia: 2000-800 cm⁻¹
- Calibración PEM: PEM calibrado a 1400 cm⁻¹
- Ajustes de retardo PEM: PEM1 = 0,250*λ; PEM2 = 0,260*λ
- Método de exploración: exploración única de 4 h; n.º total = 3120 x 4 = 12480 exploraciones) exploraciones; t ~6 h.)
- Disolvente: CDCl₃
- Concentraciones: ~ 10 mg/250 ul
- Método de corrección inicial: Semidiferencia modificada (VCDE1 (corregido) = VCDE1 menos VCDE2; VCDE2 (corregido) = VCDE2 menos VCDE1)
- Procesamiento adicional: Suavizado de 9 puntos Savitsky-Golay

Nivel estimado de fiabilidad

El límite de confianza en este estudio se estimó usando CompareVOATM (BioTools, Inc.), una herramienta automatizada para cuantificar el nivel de correspondencia entre dos conjuntos de datos espectrales.

El grado de fiabilidad (el límite de confianza) se evalúa usando los valores absolutos de dos parámetros: similitud adyacente total para la correlación VCD (TNS (VCD)) y el índice de similitud enantiomérica (ESI).

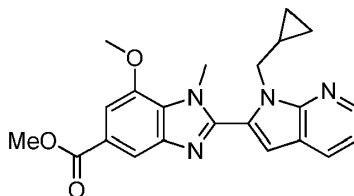
Los grados de fiabilidad basados en el análisis CompareVOA son como se indica a continuación:

Fiabilidad	*TNS (VCD) (rango)	*ESI (rango)	Límite de confianza (CL) (rango)
Alta	≥ 70	≥ 60	$> 99 \%$
Media	60-70	50-60	95 - 99 %
Baja	50-60	40-50	90 - 95 %
No fiable	< 50	< 40	$< 90 \%$
*valor absoluto			

Resultados CompareVOA: Rango espectral: 1760-950 cm^{-1}

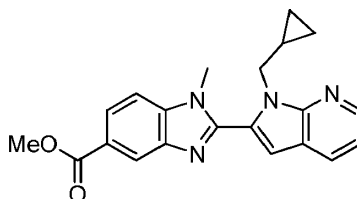
- Región omitida: ninguna
- Rango de análisis estadístico (mínimo 400 cm^{-1}): 810 cm^{-1}
- Anchura de la función de ponderación triangular: 20 cm^{-1}
- TNS (VCD): 85,1 (valor absoluto)
- ESI: 82,8 (valor absoluto)
- Factor de escala optimizada: 0,975
- Nivel de confianza estimado: $> 99 \%$

Intermedio 44: 2-(1-(Ciclopropilmetil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-7-metoxi-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-carboxilato de metilo



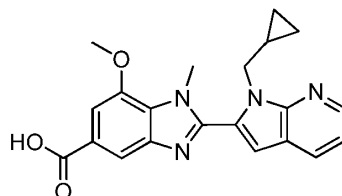
Se añadió una solución de hidrosulfito sódico (512 mg, 2,498 mmol) en agua (3,25 ml) a una solución de 3-metoxi-4-(metilamino)-5-nitrobenzoato de metilo (200 mg, 0,833 mmol) y 1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-carbaldehído (167 mg, 0,833 mmol) en etanol (6,5 ml) en un vial para microondas. La mezcla de reacción se calentó en el microondas durante 5 h a 100 °C. La mezcla de reacción se diluyó con DCM (20 ml), se secó (Na_2SO_4), se filtró y se concentró al vacío para proporcionar el producto en bruto en forma de un aceite incoloro. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna sobre un cartucho de sílice (25 g) usando un gradiente de EtOAc al 60 %/ciclohexano $\rightarrow$ EtOAc al 100 %/ciclohexano. (El producto eluyó casi el frente del disolvente). Las fracciones apropiadas se combinaron y se evaporaron al vacío para dar el producto en forma de un aceite de color amarillo - 2-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-7-metoxi-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-carboxilato de metilo (260 mg, 0,666 mmol, rendimiento del 80 %) LCMS (Método B): Tr = 1,17 min, MH^+ = 391,3.

Intermedio 45: 2-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-carboxilato de metilo



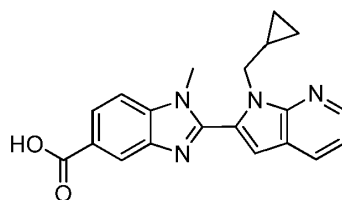
Preparado de una manera similar al Intermedio 44 usando 4-(metilamino)-3-nitrobenzoato de metilo (89 mg, 0,424 mmol) y 1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-carbaldehído (85 mg, 0,424 mmol). LCMS (Método B): Tr = 1,05 min, MH^+ = 361,1

Intermedio 46: Ácido 2-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-7-metoxi-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-carboxílico



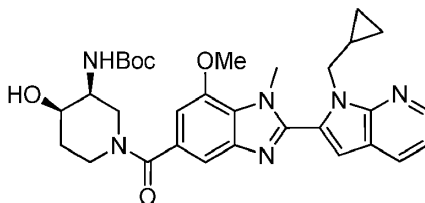
Se disolvió 2-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-7-metoxi-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-carboxilato de metilo (260 mg, 0,666 mmol) en una relación 1:1 de tetrahidrofurano (THF) (3,2 ml) y agua (3,2 ml). A esto se le añadió hidróxido de litio monohidrato (140 mg, 3,33 mmol) y la reacción se agitó a ta durante 16 h. La mezcla de reacción se acidificó mediante la adición de HCl(ac.) 2 M (20 ml) y los productos orgánicos se extrajeron en MeOH al 10 %/DCM (20 ml). La capa acuosa se lavó con 10 %MeOH/DCM (2 x 20 ml) y los productos orgánicos combinados se secaron (Na₂SO₄) y se concentraron al vacío para proporcionar un aceite de color amarillo que solidificó después de un periodo de reposo (44 mg). Debido a la deficiente recuperación, se asumió que el resto del producto permaneció en la capa acuosa. La capa acuosa se extrajo adicionalmente con EtOAc (20 ml), DCM (2 x 20 ml) y MeOH al 10 %/DCM (8 x 10 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron (Na₂SO₄) y se concentraron al vacío. Ambos productos en bruto se combinaron juntos para formar ácido 2-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-7-metoxi-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-carboxílico (105 mg, 0,279 mmol, rendimiento del 41,9 %). LCMS (Método B): Tr = 1,00 min, MH⁺ = 377,1.

Intermedio 47: Ácido 2-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-carboxílico



Preparado de una manera similar al Intermedio 46 a partir de 2-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-carboxilato de metilo (111 mg, 0,308 mmol). LCMS (Método B): Tr = 0,90 min, MH⁺ = 347,1

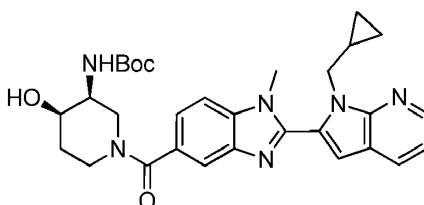
Intermedio 48: ((3S,4R)-1-(2-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-7-metoxi-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-carbonil)-4-hidroxipiperidin-3-il)carbamato de *tert*-butilo



A una solución de ácido 2-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-7-metoxi-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-carboxílico (105 mg, 0,279 mmol) en DMF (1,5 ml) se le añadió HATU (106 mg, 0,279 mmol) seguido de DIPEA (0,097 ml, 0,558 mmol) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 15 min. Se añadió ((3S,4R)-4-hidroxipiperidin-3-il)carbamato de *tert*-butilo (60,3 mg, 0,279 mmol) en DMF (1,5 ml) y la reacción se agitó a TA durante 16 h. El análisis por LCMS mostró la reacción completa. Se añadieron agua (20 ml) y Et₂O (20 ml) y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con más cantidad de Et₂O (2 x 20 ml) y los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua (2 x 20 ml), se secaron (Na₂SO₄) y se concentraron al vacío para proporcionar un aceite de color amarillo. El producto en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre sílice (10 g) usando un gradiente de DCM -> 100 % (MeOH al 20 %/DCM)/DCM. Las fracciones apropiadas se combinaron y se evaporaron al vacío para dar el producto en forma de un aceite de color amarillo - ((3S,4R)-1-(2-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-7-metoxi-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-carbonil)-4-hidroxipiperidin-3-il)carbamato de *tert*-butilo (146 mg, 0,254 mmol, rendimiento del 91 %).

LCMS (Método B): Tr = 1,03 min, MH⁺ = 575,3

Intermedio 49: ((3S,4R)-1-(2-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-carbonil)-4-hidroxipiperidin-3-il)carbamato de *tert*-butilo



Preparado de una manera similar al Intermedio 48 a partir de ácido (2-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-4-carboxílico y ((3*S*,4*R*)-4-hidroxipiperidin-3-il)carbamato de *terc*-butilo. LCMS (Método B): Tr = 0,94 min, MH⁺ = 545,2

5

Intermedio 50	1-Neopentil-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-carbaldehído	Preparado de una manera similar al Intermedio 13 a partir de 1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-carbaldehído y bromuro de neopentilo. LCMS (Método B): Tr = 1,14 min, MH ⁺ = 217,2
Intermedio 51	1-(2-Metilbutil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-carbaldehído	Preparado de una manera similar al Intermedio 13 a partir de 1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-carbaldehído y bromo-2-metilbutano. LCMS (Método B): Tr = 1,15 min, MH ⁺ = 217,2.
Intermedio 52	1-Isobutil-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-carbaldehído	Preparado de una manera similar al Intermedio 13 a partir de 1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-carbaldehído y 1-bromo-2-metilpropano. LCMS (Método B): Tr = 1,06 min, MH ⁺ = 203,1.
Intermedio 53	1-(2-Metoxi-2-metilpropil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-carbaldehído	Preparado de una manera similar al Intermedio 13 a partir de 1 H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-carbaldehído y 1-bromo-2-metoxi-2-metilpropano. LCMS (Método B): Tr = 0,92 min, MH ⁺ = 253,2
Intermedio 54	Ácido 4-cloro-3-metoxi-5-nitrobenzoico	Preparado de una manera similar al Intermedio 19 a partir de 4-cloro-3-metoxi-5-nitrobenzoato de metilo. LCMS (Método B): Tr = 0,86 min, MH ⁺ = 230,0 (ES ⁻)
Intermedio 55	(1-(4-cloro-3-metoxi-5-nitrobenzoil)piperidin-3-il)carbamato de (<i>R</i>)- <i>terc</i> -butilo	Preparado de una manera similar al Intermedio 20 a partir de ácido 4-cloro-3-metoxi-5-nitrobenzoico. LCMS (Método B): Tr = 1,08 min, MH ⁺ = 414,1

Intermedio 56: (1-(3-metoxi-4-((2-metoxietil)amino)-5-nitrobenzoil)piperidin-3-il)carbamato de (*R*)-*terc*-butilo

Se añadió 2-metoxietilamina (0,15 ml, 1,741 mmol) a una solución agitada de (1-(4-cloro-3-metoxi-5-nitrobenzoil)piperidin-3-il)carbamato de (*R*)-*terc*-butilo (280 mg, 0,406 mmol) en N,N-dimetilformamida (DMF) (1,5 ml) a ta en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se calentó a 80 °C y se agitó en una atmósfera de nitrógeno durante una noche (16 h). El análisis por LC/MS mostró que el producto deseado se había formado con una pureza del 55 %. A la mezcla de reacción se le añadieron agua (75 ml) y éter dietílico (75 ml) y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo adicionalmente con éter dietílico (2 x 50 ml). Las capas orgánicas se recogieron, se secaron (Na₂SO₄), se pasaron a través de una frita hidrófoba y se concentraron al vacío para proporcionar 330 mg de producto en bruto en forma de un aceite de color naranja. El producto en bruto se disolvió en un volumen mínimo de DCM y se purificó por cromatografía en columna (25 g de sílice). La columna se eluyó con un gradiente de acetato de etilo al 60-100 %/ciclohexano. Se usó análisis por TLC para determinar las fracciones de producto y las fracciones apropiadas se recogieron y se concentraron al vacío para proporcionar - (1-(3-metoxi-4-((2-metoxietil)amino)-5-nitrobenzoil)piperidin-3-il)carbamato de (*R*)-*terc*-butilo (165,7 mg, 0,366 mmol, rendimiento del 90 %)

LCMS (Método B): Tr = 1,04 min, MH⁺ = 453,3

Intermedio 57	(1-(4-(isobutilamino)-3-metoxi-5-nitrobenzoil)piperidin-3-il)carbamato de (<i>R</i>)- <i>terc</i> -butilo	Preparado de manera similar al Intermedio 56 a partir de <i>terc</i> -butilamina y (1-(4-cloro-3-metoxi-5-nitrobenzoil)piperidin-3-il)carbamato de (<i>R</i>)- <i>terc</i> -butilo. LCMS (Método B): Tr = 1,23 min, MH ⁺ = 451,3
Intermedio 58	(1-(3-metoxi-4-(metilamino)-5-nitrobenzoil)piperidin-3-il)carbamato de (<i>S</i>)- <i>terc</i> -butilo	Preparado de una manera similar al Intermedio 20 de ácido 3-metoxi-4-(metilamino)-5-nitrobenzoico. LCMS (Método B): Tr = 1,02 min, MH ⁺ = 409,2

25 Intermedio 59: 4-Bromo-*N*-metil-2-nitro-6-(trifluorometoxi)anilina

Una solución de 4-bromo-2-nitro-6-(trifluorometoxi)anilina (1,962 g, 6,52 mmol, disponible en el mercado, por ejemplo, en Apollo Scientific) en N,N-dimetilformamida (DMF) (80 ml) se enfrió con un baño de hielo/agua a ~0 °C durante 10 min. Después, se añadió carbonato de cesio (4,25 g, 13,04 mmol) y se agitó, y el color cambió de amarillo a rojo. Después de 10 min, se añadió yoduro de metilo (0,408 ml, 6,52 mmol) y la mezcla se dejó regresar a ta con agitación en una atmósfera de nitrógeno durante 3 h. El análisis por LCMS mostró una conversión de ~90 % en el producto deseado sin material de partida restante, y formación de ~10 % de una impureza. La mezcla de reacción se repartió usando agua (400 ml) y EtOAc (400 ml), y la capa acuosa se extrajo de nuevo con EtOAc (2 x 400 ml). Los productos orgánicos combinados se lavaron de nuevo con agua (400 ml), después se pasaron a través de una frita hidrófoba y se concentraron al vacío para dar el producto en bruto en forma de un aceite de color amarillo. La muestra se cargó en diclorometano y se purificó sobre sílice (Si) (100 g) usando ciclohexano al 100 %. Las fracciones apropiadas se combinaron y se evaporaron al vacío para dar el producto requerido (1,368 g, 67 %) en forma de un sólido de color naranja. LCMS (Método A): Tr = 1,33 min, MH⁺ = 314,9

Intermedio 60: 5-Bromo-2-(1-etil-1H-pirrol[2,3-b]piridin-2-il)-1-metil-7-(trifluorometoxi)-1H-benzo[d]imidazol

- A una solución de 4-bromo-N-metil-2-nitro-6-(trifluorometoxi)anilina (1,368 g, 4,34 mmol) y 1-etil-1H-pirrol[2,3-b]piridin-2-carbaldehído (0,756 g, 4,34 mmol) en etanol (20 ml) se le añadió ditionita sódica (2,67 g, 13,03 mmol) en agua (10 ml). La mezcla se lavó abundantemente con nitrógeno y después se calentó a 80 °C con agitación durante 17 h. El análisis por LCMS mostró una conversión de ~52 % en el producto deseado sin material de partida restante. La mezcla de reacción se repartió entre ácido clorhídrico acuoso (0,25 M, 100 ml) y se extrajo con diclorometano (3 x 100 ml). Los extractos orgánicos se combinaron, se secaron usando una frita hidrófoba y se evaporaron al vacío para dar el producto en bruto en forma de un sólido de color amarillo. La muestra se cargó en diclorometano y se purificó por cromatografía en columna sobre sílice (100 g) usando un gradiente de ciclohexano al 0-30 %-acetato de etilo. Las fracciones apropiadas se combinaron y se evaporaron al vacío para dar el producto requerido (628 mg, 33 %) en forma de una goma amarilla que solidificó.
- LCMS (Método A): Tr = 1,46 min, MH⁺ = 439,1

15 Intermedio 61: 2-(1-etil-1H-pirrol[2,3-b]piridin-2-il)-1-metil-7-(trifluorometoxi)-1H-benzo[d]imidazol-5-carboxilato de metilo

- Se disolvieron 5-bromo-2-(1-etil-1H-pirrol[2,3-b]piridin-2-il)-1-metil-7-(trifluorometoxi)-1H-benzo[d]imidazol (314 mg, 0,715 mmol), molibdeno hexacarbonilo (94 mg, 0,357 mmol), metanol (0,434 ml, 10,72 mmol), DIPEA (0,250 ml, 1,430 mmol), DMAP (175 mg, 1,430 mmol) y *trans-bis*(acetato)*bis*[o-(di-o-tolilfosfino)bencil]dipaladio (II) (34 mg, 0,036 mmol) en 1,4-dioxano (12 ml) en un vial para microondas. El recipiente de reacción se cerró herméticamente y se calentó en un microondas Biotage Initiator a 190 °C durante 2 h. Después de dejar enfriar la mezcla de reacción, el análisis por LCMS mostró una conversión de ~37 % en el producto deseado, así como una conversión de ~12 % en el producto hidrolizado. La mezcla de reacción se concentró al vacío para dar el producto en bruto, 2-(1-etil-1H-pirrol[2,3-b]piridin-2-il)-1-metil-7-(trifluorometoxi)-1H-benzo[d]imidazol-5-carboxilato de metilo (512 mg, 1,224 mmol, rendimiento del 171 %) en forma de una goma de color pardo que se usó sin purificación adicional.

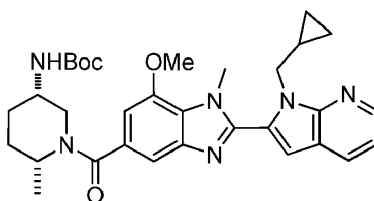
LCMS (Método A): Tr = 1,32 min, MH⁺ = 419,2.

Intermedio 62	Ácido 2-(1-etil-1H-pirrol[2,3-b]piridin-2-il)-1-metil-7-(trifluorometoxi)-1H-benzo[d]imidazol-5-carboxílico	Se preparó a partir de 2-(1-etil-1H-pirrol[2,3-b]piridin-2-il)-1-metil-7-(trifluorometoxi)-1H-benzo[d]imidazol-5-carboxilato de metilo de una manera similar al Intermedio 46. LCMS (Método B): Tr = 1,05 min, MH ⁺ = 405,1
Intermedio 63	(1-(2-(1-etil-1H-pirrol[2,3-b]piridin-2-il)-1-metil-7-(trifluorometoxi)-1H-benzo[d]imidazol-5-carbonil)piperidin-3-il)carbamato de (<i>R</i>)- <i>terc</i> -butilo	Se preparó a partir de ácido 2-(1-etil-1H-pirrol[2,3-b]piridin-2-il)-1-metil-7-(trifluorometoxi)-1H-benzo[d]imidazol-5-carboxílico (236 mg, 0,584 mmol) y piperidin-3-ilcarbamato de (<i>R</i>)- <i>terc</i> -butilo de una manera similar al Intermedio 48. LCMS (Método A): Tr = 1,28 min, MH ⁺ = 587,4
Intermedio 64	(1-(7-metoxi-1-metil-2-(1-neopentil-1H-pirrol[2,3-b]piridin-2-il)-1H-benzo[d]imidazol-5-carbonil)piperidin-3-il)carbamato de (<i>R</i>)- <i>terc</i> -butilo	Preparado de una manera similar al Intermedio 29 a partir de (1-(3-metoxi-4-(metilamino)-5-nitrobenzoil)piperidin-3-il)carbamato de (<i>R</i>)- <i>terc</i> -butilo y 1-neopentil-1H-pirrol[2,3-b]piridin-2-carbaldehído en un microondas Biotage Initiator a 100 °C durante 5 horas. LCMS (Método B): Tr = 1,23 min, MH ⁺ = 575,3.
Intermedio 65	((<i>3R</i>)-1-(7-metoxi-1-metil-2-(1-(2-metilbutil)-1H-pirrol[2,3-b]piridin-2-il)-1H-benzo[d]imidazol-5-carbonil)piperidin-3-il)carbamato de <i>terc</i> -butilo	Preparado de una manera similar al Intermedio 64 a partir de (1-(3-metoxi-4-(metilamino)-5-nitrobenzoil)piperidin-3-il)carbamato de (<i>R</i>)- <i>terc</i> -butilo y 1-(2-metilbutil)-1H-pirrol[2,3-b]piridin-2-carbaldehído. LCMS (Método B): Tr = 1,23 min, MH ⁺ = 575,4
Intermedio 66	(1-(2-(1-etil-1H-pirrol[2,3-b]piridin-2-il)-7-metoxi-1-(2-metoxietil)-1H-benzo[d]imidazol-5-carbonil)piperidin-3-il)carbamato de (<i>R</i>)- <i>terc</i> -butilo	Preparado de una manera similar al Intermedio 64 a partir de (1-(3-metoxi-4-(2-metoxietil)amino)-5-nitrobenzoil)piperidin-3-il)carbamato de (<i>R</i>)- <i>terc</i> -butilo y 1-etil-1H-pirrol[2,3-b]piridin-2-carbaldehído. LCMS (Método A): Tr = 1,14 min, MH ⁺ = 577,4
Intermedio 67	(1-(2-(1-etil-1H-pirrol[2,3-b]piridin-2-il)-1-isobutil-7-metoxi-1H-benzo[d]imidazol-5-carbonil)piperidin-3-il)carbamato de (<i>R</i>)- <i>terc</i> -butilo	Preparado de una manera similar al intermedio 65 a partir de (1-(4-isobutilamino)-3-metoxi-5-nitrobenzoil)piperidin-3-il)carbamato de (<i>R</i>)- <i>terc</i> -butilo y 1-etil-1H-pirrol[2,3-b]piridin-2-carbaldehído con un rendimiento del 67 %. LCMS (Método B): Tr = 1,22 min, MH ⁺ = 575,4
Intermedio 68	(1-(2-(1-etil-1H-pirrol[2,3-b]piridin-2-il)-7-metoxi-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-carbonil)piperidin-3-il)carbamato de (<i>S</i>)- <i>terc</i> -butilo	Preparado de una manera similar al Intermedio 29 a partir de (1-(3-metoxi-4-(metilamino)-5-nitrobenzoil)piperidin-3-il)carbamato de (<i>S</i>)- <i>terc</i> -butilo y 1-etil-1H-pirrol[2,3-b]piridin-2-carbaldehído. LCMS (Método B): Tr = 1,07 min, MH ⁺ = 533,4

Intermedio 69	(1-(7-metoxi-2-(1-(2-metoxi-2-metilpropil)-1H-pirrol-2-il)-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-carbonil)piperidin-3-il)carbamato de (<i>R</i>)- <i>tert</i> -butilo	Preparado de una manera similar al Intermedio 29 a partir de (1-(3-metoxi-4-(metilamino)-5-nitrobenzoil)piperidin-3-il)carbamato de (<i>R</i>)- <i>tert</i> -butilo y 1-(2-metoxi-2-metilpropil)-1H-pirrol-2-carbaldehído. LCMS (Método B): Tr = 1,08 min, MH ⁺ = 591,3
Intermedio 70	(1-(2-(1-isobutil-1H-pirrol-2-il)-7-metoxi-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-carbonil)piperidin-3-il)carbamato de (<i>R</i>)- <i>tert</i> -butilo	Preparado de una manera similar al Intermedio 29 a partir de (1-(3-metoxi-4-(metilamino)-5-nitrobenzoil)piperidin-3-il)carbamato de (<i>R</i>)- <i>tert</i> -butilo y 1-isobutil-1H-pirrol-2-carbaldehído. LCMS (Método B): Tr = 1,17 min, MH ⁺ = 561,3,

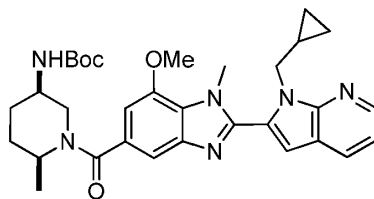
Intermedio 71: ((*cis*)-1-(2-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrol-2-il)-7-metoxi-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-carbonil)-6-metilpiperidin-3-il)carbamato de *tert*-butilo (Es un enantiómero individual desconocido con estereoquímica *cis*-relativa, enantiómero del Intermedio 72)

5



Intermedio 72: ((*cis*)-1-(2-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrol-2-il)-7-metoxi-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-carbonil)-6-metilpiperidin-3-il)carbamato de *tert*-butilo (enantiómero del Intermedio 71 con estereoquímica *cis*-relativa).

10



A una solución de ácido 2-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrol-2-il)-7-metoxi-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-carboxílico (250 mg, 0,498 mmol) en DMF (2,3 ml) se le añadió HATU (189 mg, 0,498 mmol) seguido de DIPEA (0,174 ml, 0,996 mmol) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 15 min. Se añadió (6-metilpiperidin-3-il)carbamato de *tert*-butilo (107 mg, 0,498 mmol) en DMF (2,3 ml) y la reacción se agitó a ta durante 16 h. Se añadieron agua (20 ml) y Et₂O (20 ml) y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con más cantidad de Et₂O (2 x 20 ml) y los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua (2 x 20 ml), se secaron (Na₂SO₄) y se concentraron al vacío para proporcionar un aceite de color amarillo. El producto en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre sílice (25 g) usando un gradiente de DCM → (MeOH al 20 %/DCM) al 100 %/DCM. Las fracciones apropiadas se combinaron y se evaporaron al vacío para dar el producto en forma de un aceite de color amarillo. Este material se purificó adicionalmente por MDAP de alto pH (Método E). Por consiguiente, la muestra (160 mg) se disolvió en DMSO/MeOH (1:1, 1,8 ml) y se inyectó en dos lotes. Las fracciones apropiadas se recogieron y se concentraron al vacío para proporcionar un sólido de color blanco - (1-(2-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrol-2-il)-7-metoxi-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-carbonil)-6-metilpiperidin-3-il)carbamato de *tert*-butilo (93 mg, 0,162 mmol, rendimiento del 32,6 %). Este material se envió para resolución quiral. Se resolvieron con éxito 4 componentes. Sin embargo, el análisis mostró únicamente un 1-2 % de los diastereómeros secundarios supuestos. La mezcla se sometió a cromatografía preparativa quiral (Método quiral D) y únicamente se recogieron los dos componentes principales:

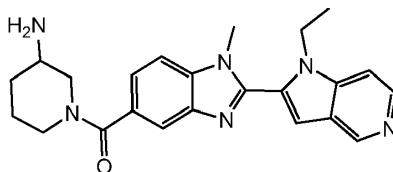
Intermedio 71: Isómero 1: ((*cis*)-1-(2-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrol-2-il)-7-metoxi-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-carbonil)-6-metilpiperidin-3-il)carbamato de *tert*-butilo (50 mg, 0,087 mmol, rendimiento del 17,53 %)

LCMS (Método B): Tr = 1,19 min, MH⁺ = 573,4

Intermedio 72: Isómero 2: ((*cis*)-1-(2-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrol-2-il)-7-metoxi-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-carbonil)-6-metilpiperidin-3-il)carbamato de *tert*-butilo (47 mg, 0,082 mmol, rendimiento del 16,48 %)

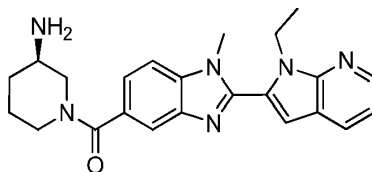
LCMS (Método B): Tr = 1,19 min, MH⁺ = 573,4.

Ejemplos

Ejemplo 1: 1-[[2-(1-Etil-1H-pirrol-3,2-c)piridin-2-il]-1-metil-1H-benzimidazol-5-il]carbonil]-3-piperidinamina

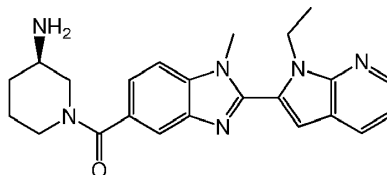
- 5 Se añadió TFA (0,25 ml, 3,24 mmol) a una solución agitada de 1-(2-(1-etil-1H-pirrol-3,2-c)piridin-2-il)-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-carbonil)piperidin-3-il)carbamato de *tert*-butilo (72,8 mg, 0,145 mmol) en diclorometano (DCM) (3 ml) a temperatura ambiente y se dejó en agitación durante 1 hora 30 minutos. La mezcla de reacción se concentró al vacío. La mezcla concentrada se disolvió en metanol se cargó sobre una columna de 5 g SCX. La columna se eluyó con metanol (3 VC) y después el producto se eluyó en forma de la base libre con amoníaco 2 M en metanol (3 VC). Las fracciones de producto se recogieron y se concentraron al vacío y después se secaron en un horno de vacío a 40 °C para dar un sólido de color amarillo (56 mg).
LCMS (Método A): Tr = 0,71 min, MH⁺ = 403,3

15 Ejemplo 2A: (R)-(3-Aminopiperidin-1-il)(2-(1-etil-1H-pirrol-2,3-b)piridin-2-il)-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona

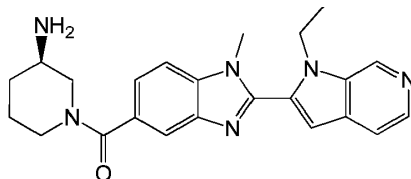


- 20 Se añadió una solución de hidrosulfito sódico (353 mg, 1,722 mmol) en agua (1,5 ml) a una solución de 1-(4-(metilamino)-3-nitrobenzoyl)piperidin-3-il)carbamato de (*R*)-*tert*-butilo (261 mg, 0,689 mmol) y 1-etil-1H-pirrol-2,3-b)piridin-2-carbaldehído (100 mg, 0,574 mmol) en etanol (3,5 ml) en un vial para microondas de 5 ml. La mezcla de reacción se calentó en el microondas durante 5 horas a 100 °C. A la mezcla de reacción se le añadió metanol. La mezcla de reacción se secó usando Na₂SO₄. Después, esta mezcla se filtró al vacío. El producto en bruto se cargó en DCM, sobre un cartucho de Si de 50 g SNAP, se purificó por SP4, eluyendo con metanol al 0-5 % en DCM (15 VC). Las fracciones apropiadas se combinaron y el disolvente se evaporó al vacío para dar un producto impuro. Éste se purificó adicionalmente por SP4: se cargó en DCM, en un cartucho de Si de 50 g SNAP, eluyendo con metanol al 0-5 % en DCM (15 VC). Las fracciones apropiadas se combinaron y el disolvente se evaporó al vacío para dar el producto protegido con BOC. El producto protegido con BOC se recogió en diclorometano (DCM) (5 ml) y se trató con TFA (0,663 ml, 8,61 mmol). La mezcla de reacción se agitó a ta durante 30 min y se dejó sin agitar durante 15 h. Después, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida y el residuo se cargó en metanol sobre una columna de 10 g SCX (preacondicionada con MeOH). La columna se lavó con MeOH (3 VC) y se eluyó con amoníaco metanólico (2 N) (4 VC). Las fracciones de amoníaco metanólico se combinaron y el disolvente se evaporó al vacío para dar el compuesto del título (178 mg) en forma de un aceite de color amarillo.
35 LCMS (Método B): Tr = 0,63 min, MH⁺ = 403,2

Ejemplo 2B: Clorhidrato de (R)-(3-aminopiperidin-1-il)(2-(1-etil-1H-pirrol-2,3-b)piridin-2-il)-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona

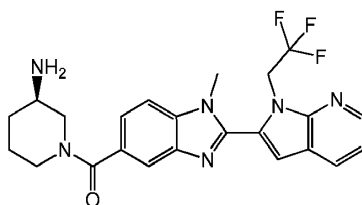


- 40 Se recogió (*R*)-(3-aminopiperidin-1-il)(2-(1-etil-1H-pirrol-2,3-b)piridin-2-il)-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona (170 mg) en MeOH (5 ml) y se trató con HCl (1 M en éter) (165 µl) y se sopló en una atmósfera de nitrógeno para dar (*R*)-(3-aminopiperidin-1-il)(2-(1-etil-1H-pirrol-2,3-b)piridin-2-il)-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona, clorhidrato (187 mg, 0,43 mmol, rendimiento del 74,2 %) en forma de un sólido de color crema.
45 LCMS (Método B): Tr = 0,63 min, MH⁺ = 403,1

Ejemplo 3: (R)-(3-Aminopiperidin-1-il)(2-(1-etil-1H-pirrolol[2,3-c]piridin-2-il)-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona

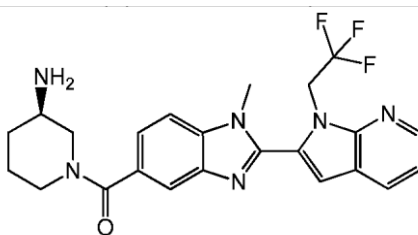
- 5 A una solución de (1-(2-(1-etil-1H-pirrolol[2,3-c]piridin-2-il)-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-carbonil)piperidin-3-il)carbamato de (R)-*tert*-butilo (42 mg, 0,084 mmol) en diclorometano (DCM) (1 ml) se le añadió TFA (0,258 ml, 3,34 mmol) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla de reacción se concentró al vacío para proporcionar un aceite de color amarillo. Éste se disolvió en metanol y se cargó sobre un cartucho SCX (5 g). Se eluyó con metanol (3 volúmenes de columna) y el producto se eluyó en forma de la base libre con amoniaco 2 M en metanol. El filtrado de las fracciones de amoniaco se concentró al vacío para producir el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (34 mg).
 10 LCMS (Método A): Tr = 0,73 min, MH⁺ = 403,2

15 Ejemplo 4A: (R)-(3-Aminopiperidin-1-il)(1-metil-2-(1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-pirrolol[2,3-b]piridin-2-il)-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona



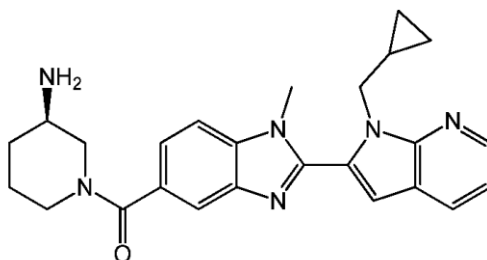
- 20 A una solución agitada de (1-(1-metil-2-(1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-pirrolol[2,3-b]piridin-2-il)-1H-benzo[d]imidazol-5-carbonil)piperidin-3-il)carbamato de (R)-*tert*-butilo (1,9336 g, 3,47 mmol) en diclorometano (DCM) (5,5 ml) se le añadió gota a gota TFA (5,05 ml, 66,0 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 45 min. La mezcla se concentró al vacío, se disolvió en metanol y se purificó por SPE en un cartucho preacondicionado de ácido sulfónico (SCX) de 70 g. La columna se lavó con metanol (5 VC) y el producto se eluyó con una solución 2 M de amoniaco en metanol (4 VC). Las fracciones apropiadas se combinaron y el disolvente se evaporó al vacío para dar un producto en bruto que se purificó por HPLC preparativa (MDAP Método E). Las fracciones apropiadas se combinaron y se concentraron al vacío para producir el compuesto del título (1,35 g).
 25 LCMS (Método B): Tr = 0,71 min, MH⁺ = 457,2

30 Ejemplo 4B: Clorhidrato de (R)-(3-aminopiperidin-1-il)(1-metil-2-(1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-pirrolol[2,3-b]piridin-2-il)-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona



- 35 Se añadió gota a gota HCl en Et₂O (1 M) (0,15 ml, 0,15 mmol) a una solución de (R)-(3-aminopiperidin-1-il)(1-metil-2-(1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-pirrolol[2,3-b]piridin-2-il)-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona (60 mg, 0,13 mmol) en metanol (1 ml) y éter dietílico (1 ml). Después de agitar durante 2,5 h a ta, la mezcla de reacción se secó en una atmósfera de nitrógeno para dar el producto requerido clorhidrato de (R)-(3-aminopiperidin-1-il)(1-metil-2-(1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-pirrolol[2,3-b]piridin-2-il)-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona (64 mg, 0,13 mmol, rendimiento del 99 %).
 40 LCMS (Método B): Tr = 0,85 min, MH⁺ = 457,2

Ejemplo 5A: (R)-(3-Aminopiperidin-1-il)(2-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrolol[2,3-b]piridin-2-il)-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona



A una solución de (1-(2-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-carbonil)piperidin-3-il)carbamato de (R)-*terc*-butilo (3,402 g, 6,44 mmol) en diclorometano (DCM) (40 ml) se le añadió gota a gota TFA (9 ml, 118 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 3 horas. La mezcla de reacción se concentró al vacío para proporcionar un aceite de color amarillo. El aceite se disolvió en metanol y se cargó sobre un cartucho de 70 g SCX. La columna se lavó con MeOH (2 VC) y el producto se recogió en forma de la base libre con amoníaco 2 M en metanol (3 VC). El producto se concentró al vacío y se secó al vacío para proporcionar un sólido de color amarillo. Éste se disolvió en etanol caliente y se concentró al vacío. Se disolvió de nuevo en etanol caliente, se concentró al vacío y se secó al vacío para producir el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (2,61 g).

LCMS (Método A): Tr = 0,89 min, MH⁺ = 429,3

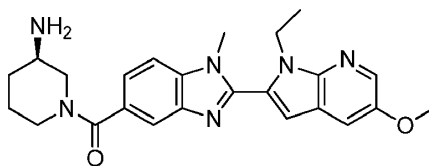
¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm: 8,24 (1 H, d), 7,96 (1 H, d), 7,51 - 7,62 (2 H, m), 7,21 (1 H, d), 7,05 (1 H, dd), 6,96 (1 H, s), 4,41 (2 H, d), 3,82 (3 H, s), 3,28 - 4,26 (2 H, m), 2,40 - 2,66 (1 H, m), 2,37-2,64 (2 H, m), 1,62 - 1,77 (1 H, m), 1,15 - 1,60 (4 H, m), 0,92 - 1,15 (2 H, m), 0,07- 0,16 (2 H, m), 0,03 - 0,04 (2 H, m)

Ejemplo 5B: (R)-((3-Aminopiperidin-1-il)(2-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona, clorhidrato

A una solución de (R)-((3-aminopiperidin-1-il)(2-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona (2,61 g, 6,09 mmol) en diclorometano (DCM) (1,5 ml) se le añadió HCl (2 M en éter dietílico) (3 ml, 6,00 mmol). La mezcla se sometió a ultrasonidos durante 2 minutos y después se concentró al vacío para proporcionar un sólido de color amarillo. Éste se disolvió en un volumen mínimo de etanol caliente. El disolvente se retiró en una atmósfera de nitrógeno y el producto se secó en una pistola de vacío a 50 °C durante una noche y después a 60 °C durante el fin de semana para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo (2,7 g).

LCMS (Método A): Tr = 0,88 min, MH⁺ = 429,3

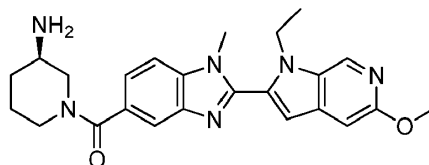
Ejemplo 6: (R)-((3-Aminopiperidin-1-il)(2-(1-etil-5-metoxi-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona



A una solución agitada de (1-(2-(1-etil-5-metoxi-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-carbonil)piperidin-3-il)carbamato de (R)-*terc*-butilo (24 mg, 0,045 mmol) en DCM (2 ml) se le añadió gota a gota TFA (2 ml, 26,0 mmol) con agitación continua. La reacción se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante 1 h. La mezcla de reacción se concentró al vacío antes de disolverse en MeOH y se purificó por SPE sobre ácido sulfónico (SCX) 1 g, lavando en primer lugar con MeOH y después eluyendo usando una solución al 10 % de NH₃/MeOH para dar la base libre del producto. Las fracciones apropiadas se combinaron y se evaporaron al vacío antes de destilarse por azeotropización con ciclohexano para dar el compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo pálido (13 mg).

LCMS (Método A): Tr = 0,84 min, MH⁺ = 433,3

Ejemplo 7: (R)-((3-Aminopiperidin-1-il)(2-(1-etil-5-metoxi-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-2-il)-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona

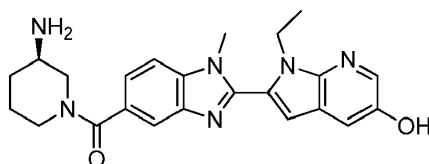


A una solución agitada de (1-(2-(1-etil-5-metoxi-1H-pirrol-2-yl)-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-carbonil)piperidin-3-yl)carbamato de (R)-*tert*-butilo (106 mg, 0,199 mmol) en diclorometano (DCM) (3 ml) se le añadió gota a gota TFA (3 ml, 38,9 mmol) con agitación continua. La reacción se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante 1 h. El análisis por LCMS mostró que la reacción estaba completa sin material de

- 5 partida restante. La mezcla de reacción se concentró al vacío antes de disolverse en MeOH y se purificó por SPE sobre ácido sulfónico (SCX) 5 g, lavando en primer lugar con MeOH y después eluyendo usando una solución al 10 % de NH₃/MeOH para dar la base libre del producto. Las fracciones apropiadas se combinaron y se evaporaron al vacío antes de destilarse por azeotropización con cHex y se secaron en la línea de alto vacío para dar el producto requerido (69 mg) en forma de un sólido de color blanco.

10 LCMS (Método A): Tr = 0,80 min, MH⁺ = 433,2

Ejemplo 8: 2-(5-[(3R)-3-Amino-1-piperidinil]carbonil)-1-metil-1H-benzimidazol-2-yl)-1-etil-1H-pirrol-2-yl]piridin-5-ol

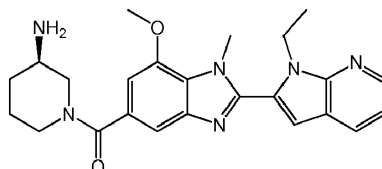


- 15 Una solución de (R)-(3-aminopiperidin-1-yl)(2-(1-etil-5-metoxi-1H-pirrol-2-yl)-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-yl)metanona (11 mg, 0,025 mmol) en diclorometano (DCM) (3 ml) se enfrió a ~0 °C usando un baño de hielo-agua en una atmósfera de nitrógeno. A la reacción se le añadió gota a gota tribromuro de boro (8 µl, 0,085 mmol) con agitación vigorosa. La mezcla de reacción se dejó regresar a temperatura ambiente con agitación, durante 4 horas. La mezcla de reacción se repartió con agua (5 ml), la capa orgánica se aisló usando una frita
- 20 hidrófoba, y la capa acuosa se extrajo de nuevo con DCM (2 x 10 ml). Las capas orgánicas combinadas se evaporaron al vacío, pero el análisis por LCMS mostró que no había producto. La capa acuosa se neutralizó mediante la adición gota a gota de NaHCO₃, se repartió con DCM y se separó. El producto acuoso se extrajo de nuevo con DCM (2 x 15 ml) y las capas orgánicas combinadas se concentraron al vacío para dar el producto en bruto. El residuo se disolvió en DMSO 1 ml y se purificó por MDAP con un modificador de bicarbonato de amonio
- 25 (Método E). La fracción apropiada se evaporó al vacío para dar el compuesto del título en forma de una goma amarilla (12 mg).

LCMS (Método A): Tr = 0,67 min, MH⁺ = 419,25

Ejemplo 9A: (R)-(3-Aminopiperidin-1-yl)(2-(1-etil-1H-pirrol-2-yl)-7-metoxi-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-yl)metanona

30



- 35 A una solución de (1-(2-(1-etil-1H-pirrol-2-yl)-7-metoxi-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-carbonil)piperidin-3-yl)carbamato de (R)-*tert*-butilo (4,4 g, 8,26 mmol) en diclorometano (DCM) (20 ml) se le añadió gota a gota TFA (9 ml, 118 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 1 hora 30 minutos. El análisis por LC/MS mostró que el producto deseado se había formado sin material de partida restante. La mezcla de reacción se concentró al vacío para proporcionar un aceite. El aceite se disolvió en metanol y se dividió en dos lotes iguales y se pasó a través de dos cartuchos separados de 70 g SCX. Las columnas se lavaron con MeOH (2 VC) y el producto se recogió de
- 40 ambas columnas en forma de la base libre con amoniaco 2 M en metanol (3 VC). El producto se concentró al vacío y se secó al vacío para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanco (3,46 g).

LCMS (Método A): Tr = 0,89 min, MH⁺ = 433,4

- ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm: 8,42 (dd, 1 H), 8,12 (dd, 1 H), 7,32 (s, 1 H), 7,22 (dd, 1 H), 7,06 (s, 1 H), 6,87 (s, 1 H), 4,62 (c, 2H), 4,14 (s, 3H), 3,99 (s, 3H), 3,50 - 4,43 (m, 2H), 2,63 - 2,71 (m, 1 H), 2,58 - 3,11 (m, 2H), 1,82 - 1,91 (m, 1 H), 1,61 - 1,76 (m, 1 H), 1,52 - 1,59 (m, 2H), 1,39 - 1,50 (m, 1 H), 1,25 (t, 3H), 1,20 - 1,26 (m, 1 H)

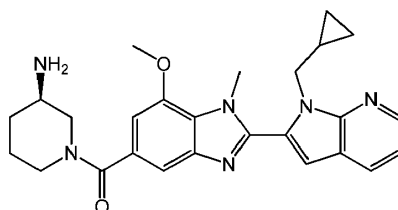
45

Ejemplo 9B: (R)-(3-Aminopiperidin-1-yl)(2-(1-etil-1H-pirrol-2-yl)-7-metoxi-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-yl)metanona, clorhidrato

- 50 Se disolvió (R)-(3-aminopiperidin-1-yl)(2-(1-etil-1H-pirrol-2-yl)-7-metoxi-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-yl)metanona (2,365 g) en DCM (6 ml) y a la solución se le añadió HCl (2 M en éter dietílico) (2,735 ml, 5,47 mmol). Después, el disolvente se retiró en una atmósfera de nitrógeno y se concentró al vacío para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanco (2,43 g).

LCMS (Método A): Tr = 0,89 min, MH⁺ = 433,3

Ejemplo 10A: (R)-(3-Aminopiperidin-1-il)(2-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrolol[2,3-b]piridin-2-il)-7-metoxi-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona



5

A una solución de (1-(2-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrolol[2,3-b]piridin-2-il)-7-metoxi-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-carbonil)piperidin-3-il)carbamato de (R)-*tert*-butilo (1,5587 g, 2,79 mmol) en DCM (10 ml) se le añadió gota a gota TFA (5 ml, 65,3 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 30 minutos y después se concentró al vacío para proporcionar un aceite. El aceite se disolvió en metanol y se cargó sobre un cartucho de 70 g SCX. La columna se lavó con MeOH (2 VC) y el producto se recogió en forma de la base libre con amoniaco 2 M en metanol (3 VC). El producto se concentró al vacío produciendo un producto en bruto. Éste se purificó por MDAP de alto pH (Método E). Las fracciones apropiadas se combinaron y se concentraron al vacío para producir el compuesto del título en forma de un sólido de color blanco, 1,127 g.

LCMS (Método A): Tr = 0,96 min, MH⁺ = 459,3

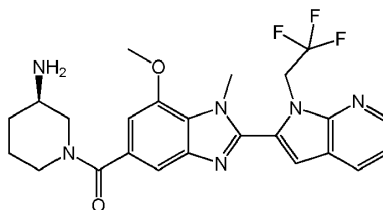
¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm: 8,27 (1 H, dd), 7,99 (1 H, dd), 7,22 (1 H, s), 7,08 (1 H, dd), 6,94 (1 H, s), 6,76 (1 H, s), 4,36 (2 H, d), 4,00 (3 H, s), 3,86 (3 H, s), 3,45 - 4,27 (4 H, m), 2,80 - 2,97 (1 H, m), 2,64-2,80 (2 H, m), 1,71 - 1,87 (1 H, m), 1,50 - 1,66 (1 H, m), 1,28 - 1,44 (1 H, m), 1,14 - 1,29 (1 H, m), 0,84 - 1,07 (1 H, m), 0,08 - 0,22 (2 H, m), -0,08 - 0,05 (2 H, m)

Ejemplo 10B: (R)-(3-Aminopiperidin-1-il)(2-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrolol[2,3-b]piridin-2-il)-7-metoxi-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona, clorhidrato

Se disolvió (R)-(3-aminopiperidin-1-il)(2-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrolol[2,3-b]piridin-2-il)-7-metoxi-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona (2,2 g) en un volumen mínimo de DCM y a la solución se le añadió HCl (2 M en éter dietílico) (2,4 ml, 4,80 mmol). La suspensión resultante se sometió a ultrasonidos durante 2 minutos y la solución se concentró al vacío para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanco (2,57 g)

LCMS (Método A): Tr = 0,95 min, MH⁺ = 459,3

Ejemplo 11A: (R)-(3-Aminopiperidin-1-il)(7-metoxi-1-metil-2-(1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-pirrolol[2,3-b]piridin-2-il)-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona



A una solución de (1-(7-metoxi-1-metil-2-(1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-pirrolol[2,3-b]piridin-2-il)-1H-benzo[d]imidazol-5-carbonil)piperidin-3-il)carbamato de (R)-*tert*-butilo (4,31 g, 7,35 mmol) en diclorometano (DCM) (20 ml) a 0 °C se le añadió gota a gota TFA (9 ml, 118 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 5 minutos, se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 3 horas. La mezcla de reacción se concentró al vacío para proporcionar un aceite. El aceite se disolvió en metanol y se dividió en dos lotes iguales. Estos se pasaron a través de dos cartuchos separados de 70 g SCX. Las columnas se lavaron con MeOH (2 VC) y el producto se recogió de ambas columnas en forma de la base libre con amoniaco 2 M en metanol (3 VC). El producto se concentró y se secó al vacío para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanco (2,53 g).

LCMS (Método A): Tr = 0,97 min, MH⁺ = 487,1

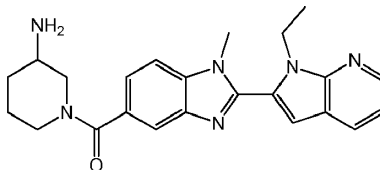
¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm : 8,48 (dd, 1 H), 8,21 (dd, 1 H), 7,33 (s, 1 H), 7,32 - 7,33 (m, 1H), 7,31 (s, 1H), 6,88 (s, 1 H), 5,74 (c, 2H), 4,19 (s, 3H), 4,00 (s, 3H), 3,51 - 4,39 (m, 2H), 2,64 - 2,73 (m, 1 H), 2,62 - 3,01 (m, 2H), 1,83 - 1,90 (m, 1 H), 1,62 - 1,77 (m, 1 H), 1,49 - 1,59 (m, 2H), 1,39 - 1,50 (m, 1H), 1,17 - 1,30 (m, 1H)

Ejemplo 11B: (R)-(3-Aminopiperidin-1-il)(7-metoxi-1-metil-2-(1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-pirrolol[2,3-b]piridin-2-il)-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona, clorhidrato

Se disolvió (R)-(3-aminopiperidin-1-il)(7-metoxi-1-metil-2-(1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-pirrolol[2,3-b]piridin-2-il)-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona (1,5073 g) en DCM (5 ml) y a la solución se le añadió HCl (2 M en éter dietílico) (1,5 ml, 3,00 mmol). Después, el disolvente se retiró en una atmósfera de nitrógeno y se concentró al vacío para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanco (1,61 g)

LCMS (Método A): Tr = 0,96 min, MH⁺ = 487,2

Ejemplo 12: (3-Aminopiperidin-1-il)(2-(1-etil-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona



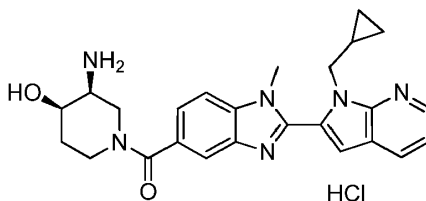
5

A una solución de (1-(2-(1-etil-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-carbonil)piperidin-3-il)carbamato de *tert*-butilo (104 mg, 0,207 mmol) en diclorometano (DCM) (1 ml) se le añadió TFA (0,367 ml, 4,76 mmol) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. El análisis por LCMS (A1) no mostró el producto deseado pero la reacción había avanzado hasta 1 producto principal. La mezcla de reacción se concentró al vacío para proporcionar un aceite incoloro. Éste se disolvió en metanol y se cargó sobre un cartucho SCX (5 g). Se eluyó con metanol (3 volúmenes de columna) y el producto se eluyó en forma de la base libre con amoníaco 2 M en metanol. El filtrado de las fracciones de amoníaco se concentró al vacío para producir un sólido de color amarillo - (3-aminopiperidin-1-il)(2-(1-etil-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona (81 mg, 0,201 mmol, rendimiento del 97 %).

LCMS (Método B): Tr = 0,64 min, MH⁺ = 403,2

Ejemplo 13: ((3S,4R)-3-Amino-4-hidroxipiperidin-1-il)(2-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona, clorhidrato

20

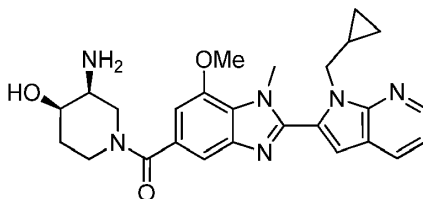


En un matraz que contenía ((3S,4R)-1-(2-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-carbonil)-4-hidroxipiperidin-3-il)carbamato de *tert*-butilo (37 mg, 0,068 mmol) en diclorometano (DCM) (1 ml) se añadió TFA (0,199 ml, 2,58 mmol) y la reacción se agitó durante 1 h. La mezcla de reacción se concentró al vacío para proporcionar un aceite de color pardo. Éste se disolvió en metanol y se cargó sobre un cartucho SCX (5 g). Se eluyó con metanol (3 volúmenes de columna) y el producto se eluyó en forma de la base libre con amoníaco 2 M en metanol. El filtrado de las fracciones de amoníaco se concentró al vacío para producir un aceite de color amarillo - ((3S,4R)-3-amino-4-hidroxipiperidin-1-il)(2-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona (32 mg, 0,068 mmol, rendimiento del 100 %). Ésta se disolvió en diclorometano (DCM) (1 ml) en un vial y se añadió HCl (2 M en Et₂O) (0,034 ml, 0,068 mmol). La suspensión resultante se sometió a ultrasonidos durante 5 min y se dejó en reposo durante 15 min. Después, el disolvente se retiró a presión positiva de nitrógeno y el producto se secó al vacío para proporcionar ((3S,4R)-3-amino-4-hidroxipiperidin-1-il)(2-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona, clorhidrato (32 mg, 0,067 mmol, rendimiento del 98 %) en forma de un sólido de color blanco.

LCMS (Método A): Tr = 0,83 min, MH⁺ = 445,3

Ejemplo 14: ((3S,4R)-3-Amino-4-hidroxipiperidin-1-il)(2-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-7-metoxi-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona, clorhidrato

40

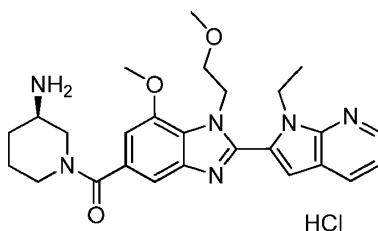


En un matraz que contenía ((3S,4R)-1-(2-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-7-metoxi-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-carbonil)-4-hidroxipiperidin-3-il)carbamato de *tert*-butilo (143 mg, 0,249 mmol) en diclorometano (DCM) (1,5 ml) se añadió TFA (0,307 ml, 3,98 mmol) y la reacción se agitó durante 1 h. El análisis por LCMS mostró la reacción completa. La mezcla de reacción se concentró al vacío para proporcionar un aceite de color pardo. Éste se disolvió en metanol y se cargó sobre un cartucho SCX (5 g). Se eluyó con metanol (3 volúmenes de columna) y el

producto se eluyó en forma de la base libre con amoniaco 2 M en metanol. El filtrado de las fracciones de amoniaco se concentró al vacío para producir un aceite de color amarillo - 97 % de pureza por LCMS. El producto en bruto (104 mg) se recogió en DMSO/MeOH (1:1, 1,8 ml) y se purificó adicionalmente por MDAP (Método E, 2 inyecciones). Las fracciones apropiadas se combinaron y se concentraron al vacío para proporcionar el producto deseado en forma de un aceite incoloro - ((3S,4R)-3-amino-4-hidroxipiperidin-1-il)(2-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-7-metoxi-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona (71 mg, 0,150 mmol, rendimiento del 60,1 %). La base libre (71 mg) se disolvió en diclorometano (DCM) (1 ml) en un vial y se añadió HCl (2 M en Et₂O) (0,075 ml, 0,15 mmol). La suspensión resultante se sometió a ultrasonidos durante 5 min y se dejó en reposo durante 15 min. Después, el disolvente se retiró a presión positiva de nitrógeno y el producto se secó al vacío para proporcionar ((3S,4R)-3-amino-4-hidroxipiperidin-1-il)(2-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-7-metoxi-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona, clorhidrato (78 mg, 0,153 mmol, rendimiento del 61,3 %) en forma de un sólido de color blanquecino. LCMS (Método A): Tr = 0,74 min, MH⁺ = 475,3 1H RMN (600 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 8,41 (dd, J = 4,6, 1,7 Hz, 1H), 8,13 (dd, J = 7,9, 1,7 Hz, 1H), 7,94 - 8,11 (m, 3H), 7,44 (s, 1H), 7,22 (dd, J = 7,9, 4,6 Hz, 1H), 7,08 (s, 1H) 6,96 (s, 1H), 5,71 (s a, 1H), 4,50 (d, J = 6,9 Hz, 2H), 4,14 (s, 3H), 4,05 - 4,10 (m, 1H), 4,00 (s, 3H), 3,79 - 3,99 (m, 1H), 3,40 - 3,62 (m, 3H), 3,28 - 3,35 (m, 1H), 1,68 - 1,86 (m, 2H) 1,07 - 1,18 (m, 1H), 0,24 - 0,35 (m, 2H), 0,08 - 0,18 (m, 2H).

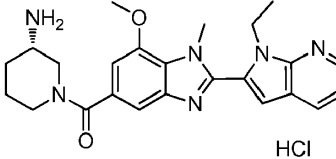
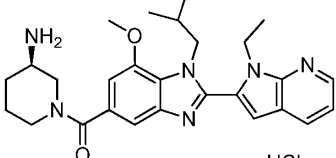
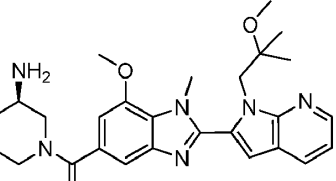
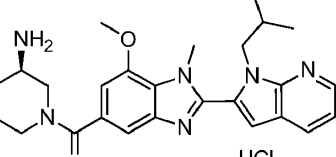
Ejemplo 15: (R)-(3-Aminopiperidin-1-il)(2-(1-etil-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-1-metil-7-(trifluorometoxi)-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona		Preparado de una manera similar al Ejemplo 1 a partir de (1-(2-(1-etil-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-1-metil-7-(trifluorometoxi)-1H-benzo[d]imidazol-5-carbonil)piperidin-3-il)carbamato de (R)- <i>tert</i> -butilo. LCMS (Método A): Tr = 1,01 min, MH ⁺ = 487,2
Ejemplo 16: (R)-(3-Aminopiperidin-1-il)(7-metoxi-1-metil-2-(1-neopentil-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona		Preparado de una manera similar al Ejemplo 1 a partir de (1-(7-metoxi-1-metil-2-(1-neopentil-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-1H-benzo[d]imidazol-5-carbonil)piperidin-3-il)carbamato de (R)- <i>tert</i> -butilo. LCMS (Método A): Tr = 1,06 min, MH ⁺ = 475,3
Ejemplo 17: ((R)-3-Aminopiperidin-1-il)(7-metoxi-1-metil-2-(1-(2-metilbutil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona		Preparado de una manera similar al Ejemplo 1 a partir de ((3R)-1-(7-metoxi-1-metil-2-(1-(2-metilbutil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-1H-benzo[d]imidazol-5-carbonil)piperidin-3-il)carbamato de <i>tert</i> -butilo. LCMS (Método A): Tr = 1,04 min, MH ⁺ = 475,3

Ejemplo 18 (R)-(3-Aminopiperidin-1-il)(2-(1-etil-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-7-metoxi-1-(2-metoxietil)-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona, clorhidrato

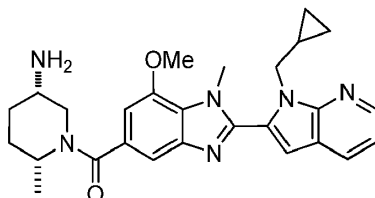


A una solución de (1-(2-(1-etil-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-7-metoxi-1-(2-metoxietil)-1H-benzo[d]imidazol-5-carbonil)piperidin-3-il)carbamato de (R)-*tert*-butilo (110 mg, 0,191 mmol) en diclorometano (DCM) (2 ml) se le añadió TFA (0,35 ml, 4,57 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 40 minutos. El análisis por LCMS mostró el producto deseado se había formado con un 98 % de pureza. La mezcla de reacción se concentró al vacío para proporcionar un aceite de color amarillo. El aceite se disolvió en metanol y se cargó sobre un cartucho SCX (10 g). La columna se lavó con MeOH (3 VC) y el producto se recogió en forma de la base libre con amoniaco 2 M en metanol (8CV). El producto se concentró al vacío para proporcionar un aceite incoloro. El producto se disolvió en 1:1 de DMSO/MeOH (1,8 ml) y dos muestras de 0,9 ml se purificaron por MDAP (Método E). Las fracciones de producto se recogieron y se concentraron al vacío para proporcionar (R)-(3-aminopiperidin-1-il)(2-(1-etil-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-7-metoxi-1-(2-metoxietil)-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona en forma de un aceite incoloro. El aceite incoloro se disolvió en diclorometano (DCM) (2 ml) y se transfirió a un vial y a la solución se le añadió HCl (2 M en éter dietílico) (0,06 ml, 0,120 mmol). El disolvente se retiró en una atmósfera de nitrógeno y después la muestra se secó en una pistola de vacío durante una noche para proporcionar (R)-(3-aminopiperidin-1-il)(2-(1-etil-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-7-metoxi-1-(2-metoxietil)-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona, clorhidrato (75,8 mg, 0,148 mmol,

rendimiento del 77 %) - en forma de un sólido de color blanco.
LCMS (Método A): Tr = 0,88 min, $MH^+ = 477,4$

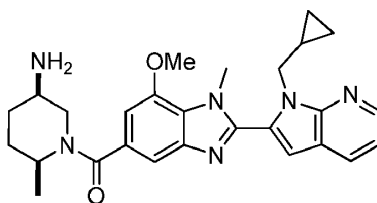
Ejemplo 19: (S)-(3-Aminopiperidin-1-il)(2-(1-etil-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-7-metoxi-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona, clorhidrato		Preparado de una manera similar al Ejemplo 13 a partir de (1-(2-(1-etil-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-7-metoxi-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-carbonil)piperidin-3-il)carbamato de (S)- <i>tert</i> -butilo. LCMS (Método A): Tr = 0,90 min, $MH^+ = 433,3$
Ejemplo 20: (R)-(3-Aminopiperidin-1-il)(2-(1-etil-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-1-isobutil-7-metoxi-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona, clorhidrato		Preparado de una manera similar al Ejemplo 13 a partir de (1-(2-(1-etil-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-1-isobutil-7-metoxi-1H-benzo[d]imidazol-5-carbonil)piperidin-3-il)carbamato de (R)- <i>tert</i> -butilo. LCMS (Método A): Tr = 0,90 min, $MH^+ = 433,3$
Ejemplo 21: (R)-(3-Aminopiperidin-1-il)(7-metoxi-2-(1-(2-metoxi-2-metilpropil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona		Preparado de una manera similar al Ejemplo 1 a partir de (1-(7-metoxi-2-(1-(2-metoxi-2-metilpropil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-carbonil)piperidin-3-il)carbamato de (R)- <i>tert</i> -butilo. LCMS (Método B): Tr = 0,74 min, $MH^+ = 491,3$
Ejemplo 22: (R)-(3-Aminopiperidin-1-il)(2-(1-isobutil-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-7-metoxi-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona, clorhidrato		Preparado de una manera similar al Ejemplo 18 a partir de (1-(2-(1-isobutil-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-7-metoxi-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-carbonil)piperidin-3-il)carbamato de (R)- <i>tert</i> -butilo. LCMS (Método B): Tr = 0,76 min, $MH^+ = 461,2$

- 5 Ejemplo 23: ((*cis*)-5-Amino-2-metilpiperidin-1-il)(2-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-7-metoxi-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona, clorhidrato (enantiómero del Ejemplo 24 con estereoquímica *cis*-relativa)



- 10 En un matraz que contenía ((3*S*,6*R*)-1-(2-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-7-metoxi-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-carbonil)-6-metilpiperidin-3-il)carbamato de *tert*-butilo (47 mg, 0,082 mmol) en diclorometano (DCM) (1 ml) se añadió TFA (0,253 ml, 3,28 mmol) y la reacción se agitó durante 2,5 h. La mezcla de reacción se concentró al vacío para proporcionar un aceite de color pardo. Éste se disolvió en metanol y se cargó sobre un cartucho SCX (5 g). Se eluyó con metanol (3 volúmenes de columna) y el producto se eluyó en forma de la base libre con amoníaco 2 M en metanol. El filtrado de las fracciones de amoníaco se concentró al vacío para producir un aceite de color amarillo - ((2*R*,5*S*)-5-amino-2-metilpiperidin-1-il)(2-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-7-metoxi-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona (35 mg, 0,074 mmol, rendimiento del 90 %). La base libre (35 mg) se disolvió en diclorometano (DCM) (1 ml) en un vial y se añadió HCl (2 M en Et₂O) (0,037 ml, 0,074 mmol). La suspensión resultante se sometió a ultrasonidos durante 5 min y se dejó en reposo durante 15 min. Después, el disolvente se retiró a presión positiva de nitrógeno y el producto se secó al vacío para proporcionar ((2*R*,5*S*)-5-amino-2-metilpiperidin-1-il)(2-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-7-metoxi-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona, clorhidrato (37 mg, 0,073 mmol, rendimiento del 89 %) en forma de un sólido de color beige.
- 15 LCMS (Método A): Tr = 0,98 min, $MH^+ = 473,3$
- 20 Ejemplo 24: ((*cis*)-5-Amino-2-metilpiperidin-1-il)(2-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-2-il)-7-metoxi-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona, clorhidrato

(enantiómero del Ejemplo 23 con estereoquímica *cis*-relativa)



Preparado de una manera similar al Ejemplo 23 a partir de ((3S,6R)-1-(2-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrol-2-il)-7-metoxi-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-carbonil)-6-metilpiperidin-3-il)carbamato de *tert*-butilo.

LCMS (Método A): Tr = 0,98 min, MH⁺ = 473,3

Datos biológicos

Expresión de la enzima PAD4

La PAD4 humana recombinante se expresó (restos 1-663) en *E. coli* como una proteína de fusión etiquetada en el N-terminal con GST. Durante la purificación de la proteína, la etiqueta de GST se eliminó mediante escisión con la proteasa PreScission (GE Healthcare). La actividad del producto final se determinó utilizando un ensayo de liberación de NH₃ FLINT.

Ensayo de la enzima PAD4: Condiciones A

8 µl de la enzima PAD4 diluida hasta una concentración de ensayo de 75 nM en tampón de ensayo (a): (HEPES 100 mM, NaCl 50 mM, DTT 2 mM y BSA 0,6 mg/ml pH 8) o en tampón de ensayo (b): (HEPES 100 mM, NaCl 50 mM, DTT 2 mM, glicerol al 7,5 % y CHAPS 1,5 mM pH 8), y añadidos a los pocillos que contienen 0,1 µl de diversas concentraciones del compuesto o de vehículo de DMSO (al 0,8 % final) en una placa negra de 384 pocillos de volumen elevado Greiner. Después de una preincubación de 30 min a temperatura ambiente, la reacción se inició mediante la adición de 4 µl de tampón de sustrato que contenía éster etílico de N-α-benzoil-L-arginina (BAEE) 3 mM, HEPES 100 mM, NaCl 50 mM, CaCl₂ (2H₂O) 600 µM y DTT 2 mM, pH 8,0. La reacción se finalizó tras 100 min con la adición de 38 µl de tampón de finalización/detección que contenía EDTA 50 mM, ftalaldehído 2,6 mM y DTT 2,6 mM. El ensayo se incubó a temperatura ambiente durante 90 min antes de medir la señal fluorescente (λ_{ex} 413/λ_{em} 476) en un lector de placas Envision (Perkin Elmer Life Sciences, Waltham, MA, EE.UU.)

Ensayo de la enzima PAD4: Condiciones B

8 µl de la enzima PAD4 diluida hasta una concentración de ensayo de 30 nM en tampón de ensayo (HEPES 100 mM, NaCl 50 mM, DTT 2 mM y BSA 0,6 mg/ml pH 8) y añadidos a los pocillos que contienen 0,1 µl de diversas concentraciones del compuesto o de vehículo de DMSO (al 0,8 % final) en una placa negra de 384 pocillos de volumen elevado Greiner. Después de 30 min de preincubación a temperatura ambiente, la reacción se inició mediante la adición de 4 µl de tampón de sustrato que contenía éster etílico de N-α-benzoil-L-arginina (BAEE) 3 mM, HEPES 100 mM, NaCl 50 mM, CaCl₂ (2H₂O) 600 µM y DTT 2 mM, pH 8,0. La reacción se finalizó tras 60 min con la adición de 38 µl de tampón de finalización/detección que contenía EDTA 50 mM, ftalaldehído 2,6 mM y DTT 2,6 mM. El ensayo se incubó a temperatura ambiente durante 90 min antes de medir la señal fluorescente (λ_{ex} 405/λ_{em} 460) en un lector de placas Envision (Perkin Elmer Life Sciences, Waltham, MA, EE.UU.)

Expresión de la enzima PAD2

La PAD2 humana recombinante se expresó (restos 1-665) en células de insecto Sf9 infectadas con baculovirus, como una proteína de fusión etiquetada en el N-terminal 6His-FLAG. La actividad del producto final se determinó utilizando un ensayo de liberación de NH₃ FLINT.

Ensayo de la enzima PAD2

8 µl de la enzima PAD2 diluida hasta una concentración de ensayo de 30 nM en tampón de ensayo (HEPES 100 mM, NaCl 50 mM, DTT 2 mM, glicerol al 7,5 % y CHAPS 1,5 mM pH 8) y añadidos a los pocillos que contenían 0,1 µl de diversas concentraciones del compuesto o de vehículo de DMSO (al 0,8 % final) en una placa negra de 384 pocillos de volumen elevado Greiner. Después de 30 min de preincubación a temperatura ambiente, la reacción se inició mediante la adición de 4 µl de tampón de sustrato que contenía éster etílico de N-α-benzoil-L-arginina (BAEE) 180 µM, HEPES 100 mM, NaCl 50 mM, CaCl₂ (2H₂O) 240 µM y DTT 2 mM, pH 8,0. La reacción se finalizó tras 90 min con la adición de 38 µl de tampón de finalización/detección que contenía EDTA 50 mM, ftalaldehído 2,6 mM y DTT 2,6 mM. El ensayo se incubó a temperatura ambiente durante 90 min antes de medir la señal fluorescente (λ_{ex} 405/λ_{em} 460) en un lector de placas Envision (Perkin Elmer Life Sciences, Waltham, MA, EE.UU.)

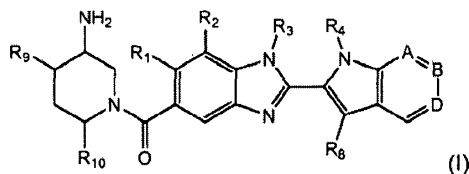
Resultados

5 Los Ejemplos 1, 2A, 2B, 3, 4A, 4B, 5B, 6, 7, 8, 9A, 9B, 10B, 11A, 11B, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 y 24 se probaron en el ensayo de la enzima PAD4 anterior o en ensayos similares, y tuvieron una pCI_{50} media en el intervalo de 5 a 7,5. La pCI_{50} media para el Ejemplo 5B fue de 6,7; la pCI_{50} media para el Ejemplo 9B, fue de 6,7; la pCI_{50} media para el Ejemplo 10B fue de 7,3; la pCI_{50} media para el Ejemplo 11 B fue de 6,9; la pCI_{50} media para el Ejemplo 14 fue de 7,1.

10 Para evaluar la selectividad por PAD4 por sobre PAD2, se probaron los siguientes Ejemplos 2B, 5B, 9B, 10B, 11B, 13, 16, 19 y 22, en el ensayo de la enzima PAD2 anterior o en ensayos similares, y tuvieron una pCI_{50} media en el intervalo de < 4,1 a 4,2. Los valores pCI_{50} medios para los Ejemplos 5B, 9B, 10B, 11B y 14 fueron todos < 4,1.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I):



en la que;

- R₁ es hidrógeno o alquilo C₁₋₆;
- R₂ es hidrógeno, alquilo C₁₋₆, perhalometil-alquil C₀₋₅-O- o alcoxi C₁₋₆;
- R₃ es hidrógeno, alquilo C₁₋₆ o alcoxi C₁₋₆-alquilo C₁₋₆;
- R₄ es hidrógeno, alquilo C₁₋₆, perhalometilalquilo C₁₋₆, o cicloalquil C₃₋₆-alquilo C₁₋₆ sin sustituir;
- A es C-R₅ o N;
- B es C-R₆ o N;
- D es C-R₇ o N;
- con la condición de que al menos uno de A, B y D sea N;
- R₅ es hidrógeno o alquilo C₁₋₆;
- R₆ es hidrógeno o alquilo C₁₋₆;
- R₇ es hidrógeno, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆ o hidroxil;
- R₈ es hidrógeno o alquilo C₁₋₆, con la condición de que uno de R₄ y R₈ sea hidrógeno;
- R₉ es hidrógeno o hidroxil;
- R₁₀ es hidrógeno o alquilo C₁₋₆;

o una sal del mismo.

2. Un compuesto de fórmula (I), o una sal del mismo, de acuerdo con la reivindicación 1, en donde R₁ es hidrógeno.

3. Un compuesto de fórmula (I), o una sal del mismo, de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde R₂ es hidrógeno o alcoxi C₁₋₆.

4. Un compuesto de fórmula (I), o una sal del mismo, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde R₃ es alquilo C₁₋₆.

5. Un compuesto de fórmula (I), o una sal del mismo, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde R₄ es alquilo C₁₋₆, cicloalquil C₃₋₆-alquilo C₁₋₆ sin sustituir o perhalometilalquilo C₁₋₆.

6. Un compuesto de fórmula (I), o una sal del mismo, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde R₆ es hidrógeno.

7. Un compuesto de fórmula (I), o una sal del mismo, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde R₇ es hidrógeno.

8. Un compuesto de fórmula (I), o una sal del mismo, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde R₈ es hidrógeno.

9. Un compuesto de fórmula (I), o una sal del mismo, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde R₉ es hidrógeno.

10. Un compuesto de fórmula (I), o una sal del mismo, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde R₁₀ es hidrógeno.

11. Un compuesto de fórmula (I), o una sal del mismo, de acuerdo con la reivindicación 1, seleccionado entre la lista que consiste en:

- 1-[[2-(1-etil-1H-pirrol-3,2-c)piridin-2-il)-1-metil-1H-benzimidazol-5-il]carbonil]-3-piperidinamina;
- (R)-(3-aminopiperidin-1-il)(2-(1-etil-1H-pirrol-2,3-b)piridin-2-il)-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona;
- (R)-(3-aminopiperidin-1-il)(2-(1-etil-1H-pirrol-2,3-c)piridin-2-il)-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona;
- (R)-(3-aminopiperidin-1-il)(1-metil-2-(1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-pirrol-2,3-b)piridin-2-il)-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona;
- (R)-(3-aminopiperidin-1-il)(2-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrol-2,3-b)piridin-2-il)-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona;
- (R)-(3-aminopiperidin-1-il)(2-(1-etil-5-metoxi-1H-pirrol-2,3-b)piridin-2-il)-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona;

- il)metanona;
 (R)-(3-aminopiperidin-1-il)(2-(1-etil-5-metoxi-1H-pirrol-2-il)-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona;
 2-(5-(((3*R*)-3-amino-1-piperidinil]carbonil)-1-metil-1*H*-bencimidazol-2-il)-1-etil-1*H*-pirrol-2-il)-1H-pirrol-2-il)-5-ol;
 5 (R)-(3-aminopiperidin-1-il)(2-(1-etil-1H-pirrol-2-il)-7-metoxi-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona;
 (R)-(3-aminopiperidin-1-il)(2-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrol-2-il)-7-metoxi-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona;
 10 (R)-(3-aminopiperidin-1-il)(7-metoxi-1-metil-2-(1-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-pirrol-2-il)-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona;
 (3-aminopiperidin-1-il)(2-(1-etil-1H-pirrol-2-il)-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona;
 ((3*S*,4*R*)-3-amino-4-hidroxipiperidin-1-il)(2-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrol-2-il)-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona;
 15 ((3*S*,4*R*)-3-amino-4-hidroxipiperidin-1-il)(2-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrol-2-il)-7-metoxi-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona;
 (R)-(3-aminopiperidin-1-il)(2-(1-etil-1H-pirrol-2-il)-1-metil-7-(trifluorometoxi)-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona;
 (R)-(3-aminopiperidin-1-il)(7-metoxi-1-metil-2-(1-neopentil-1H-pirrol-2-il)-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona;
 20 ((R)-3-aminopiperidin-1-il)(7-metoxi-1-metil-2-(1-(2-metilbutil)-1H-pirrol-2-il)-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona;
 (R)-(3-aminopiperidin-1-il)(2-(1-etil-1H-pirrol-2-il)-7-metoxi-1-(2-metoxietil)-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona;
 25 (S)-(3-aminopiperidin-1-il)(2-(1-etil-1H-pirrol-2-il)-7-metoxi-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona;
 (R)-(3-aminopiperidin-1-il)(2-(1-etil-1H-pirrol-2-il)-1-isobutil-7-metoxi-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona;
 (R)-(3-aminopiperidin-1-il)(7-metoxi-2-(1-(2-metoxi-2-metilpropil)-1H-pirrol-2-il)-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona;
 30 (R)-(3-aminopiperidin-1-il)(2-(1-isobutil-1H-pirrol-2-il)-7-metoxi-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona, y;
 ((*cis*)-5-amino-2-metilpiperidin-1-il)(2-(1-(ciclopropilmetil)-1H-pirrol-2-il)-7-metoxi-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-il)metanona,
 35 y sales de los mismos.
12. Un compuesto de fórmula (I) de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 como una sal farmacéuticamente aceptable.
- 40 13. Un compuesto de fórmula (I) como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de artritis reumatoide, vasculitis, lupus eritematoso sistémico, colitis ulcerosa, cáncer, fibrosis quística, asma, lupus eritematoso cutáneo o psoriasis.
- 45 14. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la fórmula (I) como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.