

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 609 857**

51 Int. Cl.:

C07D 471/04 (2006.01)

A61K 31/4745 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

A61P 37/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.08.2012 PCT/EP2012/065918**

87 Fecha y número de publicación internacional: **21.02.2013 WO13024104**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.08.2012 E 12748028 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.10.2016 EP 2744809**

54 Título: **4-(8-metoxi-1-((1-metoxipropan-2-il)-2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-1H-imidazo[4,5-C]quinolin-7-il)-3,5-dimetilisoxazol y su uso como inhibidor de bromodominios**

30 Prioridad:

17.08.2011 GB 201114103

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

24.04.2017

73 Titular/es:

**GLAXOSMITHKLINE LLC (100.0%)
Corporation Service Company, 2711 Centreville
Road, Suite 400
Wilmington, Delaware 19808, US**

72 Inventor/es:

**DEMONT, EMMANUEL, HUBERT;
JONES, KATHERINE, LOUISE y
WATSON, ROBERT J**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 609 857 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

4-(8-metoxi-1-((1-metoxipropan-2-il)-2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-1H-imidazo[4,5-C]quinolin-7-il)-3,5-dimetilisoxazol y su uso como inhibidor de bromodominios

Campo de la invención

- 5 La presente invención se refiere a compuestos novedosos, a composiciones farmacéuticas que contienen tales compuestos y a su uso en terapia.

Antecedentes de la invención

10 Los genomas de organismos eucarióticos están altamente organizados dentro del núcleo de la célula. Las cadenas largas de ADN dúplex rodean un octómero de proteínas de histona (comprendiendo lo más usualmente dos copias de las histonas H2A, H2B H3 y H4) para formar un nucleosoma. Esta unidad básica además luego se comprime mediante la agregación y plegado de nucleosomas para formar una estructura de cromatina altamente condensada. Es posible un intervalo de diferentes estados de condensación y el estrechamiento de esta estructura varía durante el ciclo celular, siendo la más compacta durante el proceso de división celular. La estructura de cromatina juega un papel crítico en la regulación de la transcripción de genes, que no se puede producir de manera eficaz a partir de cromatina altamente condensada. La estructura de cromatina se controla mediante una serie de modificaciones después de la traducción a proteínas histonas, notablemente las histonas H3 y H4 y lo más comúnmente dentro de las colas de histona que se extienden más allá de la estructura del nucleosoma central. Estas modificaciones incluyen acetilación, metilación, fosforilación, ubiquitinilación, SUMOilación. Estas marcas epigénicas se escriben y se borran por enzimas específicas, que colocan las etiquetas sobre residuos específicos dentro de la cola de la histona, formando por lo tanto un código epigénico, que después se interpreta por la célula para permitir la regulación específica de genes de la estructura de la cromatina y por lo tanto la transcripción.

15 La acetilación de histona está lo más usualmente asociada a la activación de la transcripción de genes, ya que la modificación afloja la interacción del ADN y el octómetro de histona cambiando la electrostática. Además de este cambio físico, las proteínas específicas se unen a residuos de lisina acetilados dentro de las histonas para leer el código epigénico. Los Bromodominios son dominios distintos pequeños (~110 aminoácidos) dentro de las proteínas que se unen a residuos de lisina acetilados comúnmente pero no exclusivamente en el contexto de histonas. Existe una familia de aproximadamente 50 proteínas conocidas que contienen bromodominios y tienen un intervalo de funciones dentro de la célula.

20 La familia BET de bromodominio que contiene proteínas comprende 4 proteínas (BRD2, BRD3, BRD4 y BRD-t) que contienen bromodominios en tándem capaces de unirse a dos residuos de lisina acetilados en proximidad estrecha, incrementando la especificidad de la interacción. BRD2 y BRD3 se reseña que están asociadas a histonas junto a los genes activamente transcritos y pueden estar implicadas en facilitar la elongación de la transcripción (Leroy et al, Mol. Cell. 2008 30 (1): 51 - 60), mientras BRD4 parece estar implicada en el reclutamiento del complejo pTEF- β a genes inducibles, que dan como resultado la fosforilación de la ARN polimerasa y aumento de la salida de la transcripción (Hargreaves et al, Cell, 2009 138 (1): 129 - 145). También se ha reseñado que la BRD4 o BRD3 pueden fusionarse con NUT (proteína nuclear en los testículos) formando oncogenes de fusión novedosos, BRD4-NUT o BRD3-NUT, en una forma altamente maligna de neoplasia epitelial (French *et al.* Cancer Research, 2003, 63, 304 - 307 y French *et al.* Journal of Clinical Oncology, 2004, 22 (20), 4135 - 4139). Los datos sugieren que las proteínas de fusión BRD-NUT contribuyen a la carcinogénesis (Oncogene, 2008, 27, 2237 - 2242). BRD-t se expresa únicamente en los testículos y ovarios. Todos los miembros de la familia se han reseñado que tienen alguna función en el control o ejecución de aspectos del ciclo celular y se ha mostrado que permanecen en complejo con los cromosomas durante la división celular – sugiriendo un papel en el mantenimiento de la memoria epigénica. Además algunos virus hacen uso de estas proteínas para atar sus genomas a la cromatina de la célula huésped, como parte del proceso de replicación vírico (You et al. Cell, 2004 45 117 (3): 349 - 60).

La solicitud de patente japonesa JP2008-156311 divulga un derivado de benzimidazol que se dice que es un bromodominio de BRD2 que se une al agente que tiene utilidad con respecto a la infección/proliferación de virus.

La solicitud de patente WO2009084693A1 divulga una serie de derivados de tienotriazolodiazepieno que se dice que inhiben la unión entre una histona acetilada y una proteína que contiene bromodominio que se dice que son útiles como agentes anti-cáncer.

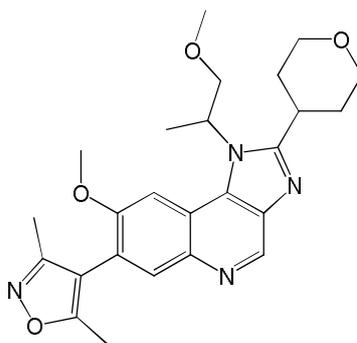
La solicitud de patente WO2011/054846 divulga una serie de derivados de quinolina que inhiben la unión de los bromodominios de la familia BET con residuos de lisina acetilados.

Los compuestos novedosos se ha encontrado que inhiben la unión de bromodominios con sus proteínas acetiladas

afines, más particularmente una clase de compuestos que inhiben la unión de bromodominios de la familia BET a los residuos de lisina acetilados. Tales compuestos de aquí en adelante se denominarán "inhibidores de bromodominio".

Sumario de la invención

- 5 En un primer aspecto de la presente invención, se proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal del mismo farmacéuticamente, más particularmente un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo



(I)

- 10 En un segundo aspecto de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables.

En un tercer aspecto de la presente invención, se proporciona un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en terapia.

15 Breve descripción de las figuras

La Figura 1: muestra un patrón de XRPD de una forma cristalina de 4-(8-metoxi-1-((R)-1-metoxipropan-2-il)-2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-il)-3,5-dimetilisoxazol (forma anhidra 1).

La Figura 2: muestra un patrón de XRPD de una forma cristalina de 4-(8-metoxi-1-((R)-1-metoxipropan-2-il)-2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-il)-3,5-dimetilisoxazol (forma anhidra 2).

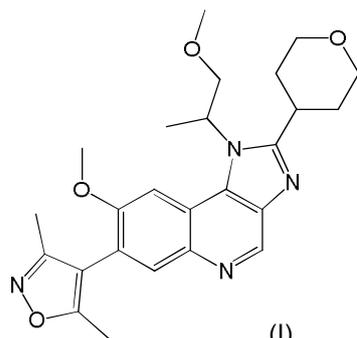
- 20 La Figura 3: muestra un patrón de XRPD de una forma cristalina de 4-(8-metoxi-1-((R)-1-metoxipropan-2-il)-2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-il)-3,5-dimetilisoxazol (forma anhidra 3).

La Figura 4: muestra un patrón de XRPD de una forma cristalina de 4-(8-metoxi-1-((R)-1-metoxipropan-2-il)-2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-il)-3,5-dimetilisoxazol (hidrato).

- 25 La Figura 5: muestra un patrón de XRPD de una forma cristalina de clorhidrato de 4-(8-metoxi-1-((R)-1-metoxipropan-2-il)-2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-il)-3,5-dimetilisoxazol (clorhidrato).

Descripción detallada de la invención

La presente invención se refiere a un compuesto de fórmula (I) que es 4-(8-metoxi-1-((R)-1-metoxipropan-2-il)-2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-il)-3,5-dimetilisoxazol



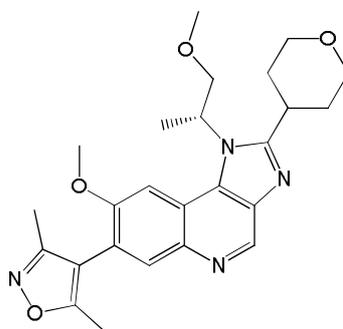
(I)

o una sal del mismo

5 El compuesto de fórmula (I) contiene un átomo quiral de manera que se pueden formar isómeros ópticos, por ejemplo enantiómeros. De acuerdo con lo anterior, la presente invención abarca todos los isómeros del compuesto de fórmula (I) como isómeros individuales aislados tales como sustancialmente libres de otro isómero (es decir puros) o como mezclas (es decir racematos y mezclas racémicas). Un isómero individual aislado de manera que esté sustancialmente libre del otro isómero (es decir puro) puede estar aislado de manera que esté presente menos del 10 %, particularmente menos que aproximadamente el 1 %, por ejemplo menos que aproximadamente el 0,1 % del otro isómero.

10 La separación de isómeros se puede lograr mediante técnicas convencionales conocidas por los expertos en la técnica, por ejemplo, mediante cristalización fraccionada, cromatografía o HPLC.

En una realización se proporciona un compuesto de fórmula (IA) que es 4-(8-metoxi-1-((R)-1-metoxipropan-2-il)-2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-il)-3,5-dimetilisoxazol

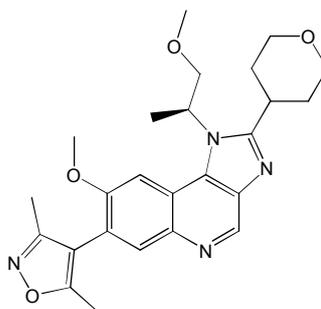


(IA)

15

o una sal del mismo.

En una realización adicional se proporciona un compuesto de fórmula (IB) que es 4-(8-metoxi-1-((S)-1-metoxipropan-2-il)-2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-il)-3,5-dimetilisoxazol



(IB)

20

o una sal del mismo.

25 Se apreciará que los compuestos de fórmula (IA) y fórmula (IB) están dentro del ámbito del compuesto de fórmula (I). Como se usa en el presente documento, salvo que se establezca de otra manera, una referencia a un compuesto de fórmula (I) también incluye una referencia al compuesto de fórmula (IA) y un compuesto de fórmula (IB).

Se apreciará que la presente invención cubre los compuestos de fórmula (I) como la base libre y como sales de los mismos, por ejemplo como una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una realización la invención se refiere a compuestos de fórmula (I) en la forma de una base libre. En una realización la invención se refiere a compuestos de fórmula (I) o a una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

30 Debido a su uso potencial en medicina, las sales de los compuestos de fórmula (I) son deseablemente farmacéuticamente aceptables. Las sales farmacéuticamente aceptables adecuadas pueden incluir sales de

adición de ácido. Para una revisión de las sales farmacéuticamente aceptables adecuadas véase Berge *et al.*, J. Pharm. Sci., 66: 1 - 19, (1977). Normalmente, una sal farmacéuticamente aceptable se puede preparar fácilmente mediante el uso de un ácido o base deseado según sea apropiado. La sal resultante puede precipitar en solución y se puede recoger mediante filtración o se puede recuperar mediante evaporación del disolvente.

5 Una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable se puede formar mediante reacción de un compuesto de fórmula (I) con un ácido inorgánico u orgánico adecuado (tales como ácido bromhídrico, clorhídrico, sulfúrico, nítrico, fosfórico, succínico, maleico, acético, propiónico, fumárico, cítrico, tartárico, láctico, benzoico, salicílico, glutámico, aspártico, p-toluenosulfónico, bencenosulfónico, metanosulfónico, etanosulfónico, naftalenosulfónico tal como 2-naftalenosulfónico, o hexanoico), opcionalmente en un disolvente adecuado tal como un disolvente orgánico, para proporcionar la sal que se aísla usualmente por ejemplo mediante cristalización y filtración o mediante evaporación seguida de trituración. Una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable de un compuesto de fórmula (I) puede comprender o ser por ejemplo una sal bromhidrato, clorhidrato, sulfato, nitrato, fosfato, succinato, maleato, acetato, propionato, fumarato, citrato, tartrato, lactato, benzoato, salicilato, glutamato, aspartato, p-toluenosulfonato, bencenosulfonato, metanosulfonato, etanosulfonato, naftalenosulfonato (por ejemplo, 2-naftalenosulfonato) o hexanoato. En una realización una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable de un compuesto de fórmula (I) puede comprender o ser una sal clorhidrato, sulfato, maleato, fumarato, citrato, p-toluenosulfonato, bencenosulfonato o metanosulfonato. En una realización particular se proporciona un compuesto de fórmula (IA) en la forma de una sal clorhidrato.

20 Se pueden usar otras sales no farmacéuticamente aceptables, por ejemplo, formiatos, oxalatos o trifluoroacetatos, por ejemplo en el aislamiento de los compuestos de fórmula (I) y se incluyen dentro del ámbito de esta invención.

La invención incluye dentro de su ámbito todas las formas estequiométricas y no estequiométricas posibles de las sales de los compuestos de fórmula (I).

25 Se apreciará que muchos compuestos orgánicos pueden formar complejos con disolventes en los que reaccionan o a partir de los que se precipitan o cristalizan. Estos complejos se conocen como "solvatos". Por ejemplo, un complejo con agua se conoce como un "hidrato". Los disolventes con altos puntos de ebullición y/o capaces de formar enlaces de hidrógeno tales como agua, xileno, N-metilpirrolidinona, metanol y etanol se pueden usar para formar solvatos. Los procedimientos para la identificación de solvatos incluyen, pero no se limitan a, RMN y microanálisis. Los solvatos de los compuestos de fórmula (I) están dentro del ámbito de la invención.

30 La invención incluye dentro de su ámbito todas las formas posibles estequiométricas y no estequiométricas de los solvatos de los compuestos de fórmula (I).

La divulgación abarca todos los profármacos, del compuesto de fórmula (I) o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que tras la administración al receptor son capaces de proporcionar (directa o indirectamente) el compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o un metabolito o residuo activo del mismo. Tales derivados son reconocibles por los expertos en la técnica, sin experimentación excesiva. No obstante, se hace referencia a la enseñanza de Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery, 5^a Edición, Vol 1: Principles and Practice, que se incorpora en el presente documento por referencia para la extensión de enseñanza de estos derivados.

40 Los compuestos de fórmula (I) pueden estar en forma cristalina o amorfa. Además, algunas de las formas cristalinas de los compuestos de fórmula (I) pueden existir como polimorfos, que se incluyen dentro del ámbito de la presente invención. Las formas polimórficas de los compuestos de fórmula (I) se pueden caracterizar y diferenciar usando un número de técnicas analíticas convencionales, que incluyen, pero no se limitan a, patrones de difracción de rayos X en polvo (XRPD), espectros de infrarrojos (IR), espectros de Raman, calorimetría de barrido diferencial (DSC), análisis termogravimétrico (TGA) y resonancia magnética nuclear de estado sólido (SSNMR).

45 El compuesto de fórmula (IA), es decir 4-(8-metoxi-1-((R)-1-metoxipropan-2-il)-2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-il)-3,5-dimetilisoxazol, en la forma de una base libre se ha encontrado que existe en un número de formas cristalinas diferentes, a saber, formas anhidras 1, 2 y 3 y forma hidratada 1. Tales formas cristalinas se pueden preparar mediante procedimientos descritos en el presente documento.

50 De este modo en una realización, se proporciona una forma cristalina de 4-(8-metoxi-1-((R)-1-metoxipropan-2-il)-2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-il)-3,5-dimetilisoxazol (forma anhidra 1) caracterizada sustancialmente por el patrón de difracción de rayos X en polvo (XRPD) como se muestra en la Figura 1, en la que el patrón de XRPD se expresa en términos de ángulos 2 theta y se obtiene con un difractómetro que usa radiación K α de cobre usando los procedimientos descritos en el presente documento. El patrón de XRPD de la forma anhidra 1 muestra máximos característicos de ángulo 2 theta como se enumera en el Ejemplo 9 Tabla 1.

En una realización adicional, se proporciona una forma cristalina de 4-(8-metoxi-1-((R)-1-metoxipropan-2-il)-2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-il)-3,5-dimetilisoaxazol (forma anhidra 2) caracterizada sustancialmente por el patrón de difracción de rayos X en polvo (XRPD) como se muestra en la Figura 2, en la que patrón de XRPD se expresa en términos de ángulos 2 theta y se obtiene con un difractómetro que usa radiación K α de cobre usando procedimientos descritos. El patrón de XRPD de forma anhidra 2 muestra máximos de ángulo 2 tetha característicos como se enumeran en el Ejemplo 9 Tabla 1.

En una realización adicional, se proporciona una forma cristalina 4-(8-metoxi-1-((R)-1-metoxipropan-2-il)-2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-il)-3,5-dimetilisoaxazol (forma anhidra 3) caracterizada sustancialmente por el patrón de difracción de rayos X en polvo (XRPD) como se muestra en la Figura 3, en la que el patrón de XRPD se expresa en términos de ángulos 2 theta y se obtiene con un difractómetro que usa radiación K α de cobre usando procedimientos descritos en el presente documento. El patrón de XRPD de forma anhidra 3 muestra máximos característicos de ángulo 2 tetha como se enumeran en el Ejemplo 9 Tabla 1.

En una realización adicional, se proporciona una forma cristalina de 4-(8-metoxi-1-((R)-1-metoxipropan-2-il)-2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-il)-3,5-dimetilisoaxazol (hidrato) caracterizada sustancialmente por el patrón de difracción de rayos X en polvo (XRPD) como se muestra en la Figura 4, en la que el patrón de XRPD se expresa en términos de ángulos 2 theta y se obtiene con un difractómetro que usa radiación K α de cobre usando procedimientos descritos en el presente documento. El patrón de XRPD del hidrato muestra máximos característicos de ángulo 2 tetha como se enumeran en el Ejemplo 9 Tabla 1.

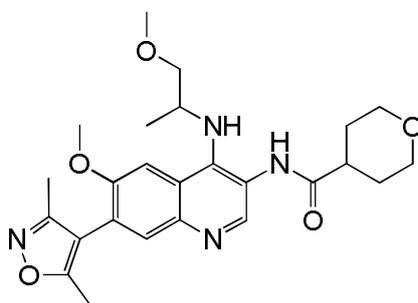
La invención también proporciona el compuesto de fórmula (IA) es decir clorhidrato de 4-(8-metoxi-1-((R)-1-metoxipropan-2-il)-2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-il)-3,5-dimetilisoaxazol en forma cristalina. Una forma cristalina tal se puede preparar mediante procedimientos descritos en el presente documento.

En una realización adicional, se proporciona una forma cristalina de clorhidrato de 4-(8-metoxi-1-((R)-1-metoxipropan-2-il)-2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-il)-3,5-dimetilisoaxazol (forma clorhidrato 1) caracterizada sustancialmente por el patrón de difracción de rayos X en polvo (XRPD) como se muestra en la Figura 5, en la que el patrón de XRPD se expresa en términos de ángulos 2 theta y se obtiene con un difractómetro que usa radiación K α de cobre usando procedimientos descritos en el presente documento. El patrón de XRPD de esta forma muestra máximos característicos de ángulo 2 tetha como se enumeran en el Ejemplo 9 Tabla 1.

Se apreciará a partir de lo anterior que incluidos dentro del ámbito de la invención están los solvatos, los isómeros y las formas polimórficas de los compuestos de fórmula (I) y sus sales.

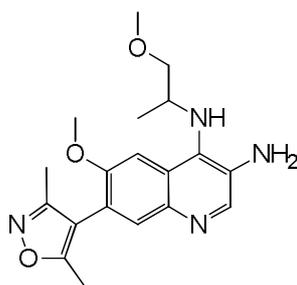
Los compuestos de fórmula (I) o sus sales se pueden preparar mediante una diversidad de procedimientos, incluyendo química estándar. Los procedimientos de síntesis general establecidos se establecen más adelante y después los compuestos específicos de fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, se preparan en los Ejemplos.

El compuesto de fórmula (I) se puede preparar a partir del compuesto de fórmula (II), por ejemplo, calentando el compuesto de fórmula (II) en ácido acético o ácido p-toluenosulfónico en tolueno



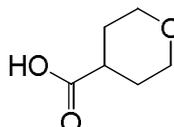
(II)

El compuesto de fórmula (II) se puede preparar mediante reacción del compuesto de fórmula (III)



(III)

con un compuesto de fórmula (IV) o un derivado activado del mismo



(IV)

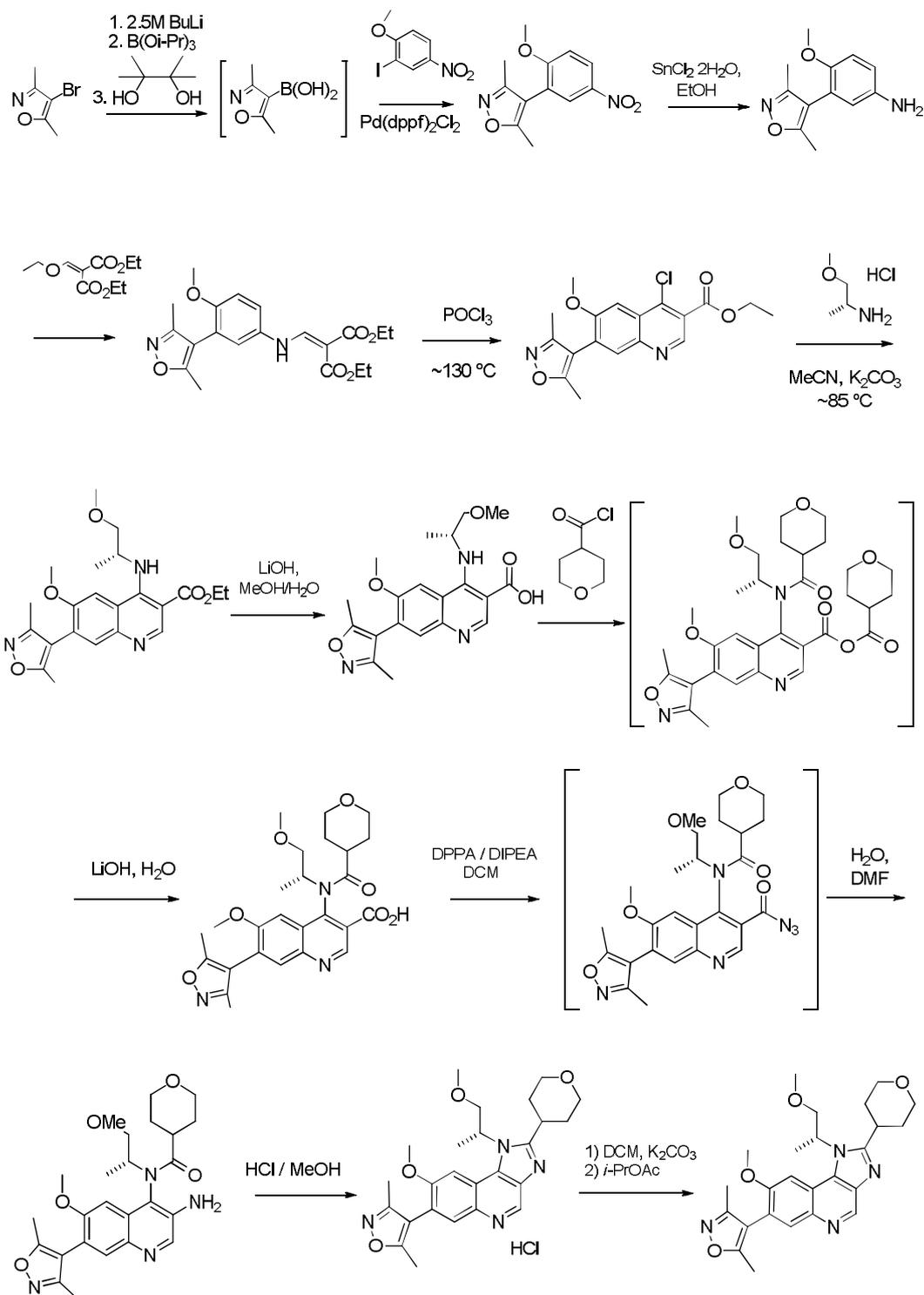
5

Un derivado activado adecuado del compuesto de fórmula (IV) es el cloruro de ácido. La reacción entre el compuesto de fórmula (III) y el compuesto de fórmula (IV) se puede llevar a cabo en un disolvente orgánico adecuado opcionalmente en la presencia de una base.

10

Donde el compuesto de fórmula (I) es una mezcla de isómeros los compuestos de fórmula (IA) y fórmula (IB) se pueden obtener a partir del compuesto de fórmula (I) usando técnicas de separación adecuadas que son familiares para los expertos en la técnica, tales como las descritas en el presente documento. De manera alternativa los compuestos de fórmula (IA) y (IB) se pueden preparar mediante un procedimiento de síntesis quiral. A modo de ilustración, el compuesto de fórmula (IA) se puede preparar mediante el procedimiento establecido en el Esquema 1.

15 Esquema 1



Los expertos en la técnica apreciarán que puede ser ventajoso proteger uno más grupos funcionales de los compuestos descritos anteriormente. Ejemplos de grupos protectores y los medios para su eliminación se pueden encontrar en T. W. Greene 'Protective Groups in Organic Synthesis' (4^a edición, J. Wiley and Sons, 2006). Los grupos protectores de amina adecuados incluyen acilo (por ejemplo, acetilo, carbamato (por ejemplo, 2',2',2'-tricloroetoxicarbonilo, benciloxycarbonilo o t-butoxicarbonilo) y arilalquilo (por ejemplo, bencilo), que se pueden retirar mediante hidrólisis (por ejemplo, usando un ácido tal como ácido clorhídrico en dioxano o ácido trifluoroacético en diclorometano) o de manera reductora (por ejemplo, hidrogenólisis de un grupo bencilo o benciloxycarbonilo o eliminación reductora de un grupo 2',2',2'-tricloroetoxicarbonilo usando zinc en ácido acético) según sea apropiado. Otros grupos protectores de amina apropiados incluyen trifluoroacetilo (-COCF₃) que se pueden eliminar mediante hidrólisis catalizada por base.

5 Se apreciará que en cualquiera de las rutas descritas anteriores, se puede variar el orden preciso de las etapas de síntesis mediante las que los diversos grupos y restos se introducen en la molécula. Estará dentro de la habilidad del experto en la técnica asegurar que los grupos o restos introducidos en una fase del procedimiento no estarán afectados por las transformaciones y reacciones posteriores y seleccionar el orden de las etapas de síntesis de acuerdo con lo anterior.

Ciertos compuestos intermedios descritos anteriormente forman un aspecto adicional de la invención.

10 Los compuestos de fórmula (I) y sus sales son inhibidores de bromodominio y de este modo se cree que tienen utilidad potencial en el tratamiento de enfermedades o afecciones para las que está indicado un inhibidor de bromodominio. Además, los compuestos de fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos (tales como el compuesto de fórmula (IA) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo) pueden tener una o más propiedades ADMET (absorción, distribución, metabolismo, excreción y toxicidad) que los hacen particularmente adecuados.

15 De este modo la presente invención proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en terapia. En una realización se proporciona un compuesto de fórmula (IA) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en terapia.

20 El compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se puede usar en el tratamiento de enfermedades o afecciones para las que está indicado un inhibidor de bromodominio. Se divulga un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en el tratamiento de cualesquiera enfermedades o afecciones para las que está indicado un inhibidor de bromodominio. En una realización se proporciona un compuesto de fórmula (IA) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en el tratamiento de cualesquiera enfermedades o afecciones para las que está indicado un inhibidor de bromodominio. En otra realización se proporciona un compuesto de fórmula (I) (tal como un compuesto de fórmula (1A)) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en el tratamiento de afecciones crónicas auto-inmunes y/o inflamatorias. En una realización adicional se proporciona un compuesto de fórmula (I) (tal como un compuesto de fórmula (1A)) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en el tratamiento de cáncer.

30 También se divulga el uso de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades o afecciones para las que está indicado un inhibidor de bromodominio. En una realización se proporciona el uso de un compuesto de fórmula (IA) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades o afecciones para las que está indicado un inhibidor de bromodominio.

35 También se divulga un procedimiento de tratamiento de enfermedades o afecciones para las que está indicado un inhibidor de bromodominio en un sujeto que lo necesita que comprende la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una realización se proporciona un procedimiento de tratamiento de enfermedades o afecciones para las que está indicado un inhibidor de bromodominio en un sujeto que lo necesita que comprende la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (IA) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

De manera adecuada el sujeto que lo necesita es un mamífero, en particular un ser humano.

40 Como se usa en el presente documento, el término "cantidad eficaz" significa la cantidad de un fármaco o agente farmacéutico que provocará la respuesta biológica o médica de un tejido, sistema, o sujeto (por ejemplo, un ser humano) que se está buscando, por ejemplo, por un investigador o un trabajador clínico. Además, el término "cantidad terapéuticamente eficaz" significa cualquier cantidad que, comparando con un sujeto correspondiente que no ha recibido tal cantidad, da como resultado un tratamiento, curación, prevención, o mejora aumentados de una enfermedad, trastorno o efecto secundario, o una disminución en la velocidad de progreso de una enfermedad o trastorno. El término también incluye dentro de este ámbito cantidades eficaces para potenciar la función fisiológica normal.

50 Se cree que los inhibidores de bromodominio son útiles en el tratamiento de una diversidad de enfermedades o afecciones relacionadas con inflamación sistémica o de tejido, respuestas inflamatorias a la infección o hipoxia, activación y proliferación celular, metabolismo de lípidos, fibrosis y en la prevención y tratamiento de infecciones víricas.

Los inhibidores de bromodominio pueden ser útiles en el tratamiento de una amplia diversidad de afecciones autoinmunes e inflamatorias crónicas tales como artritis reumatoide, osteoartritis, gota aguda, psoriasis, lupus eritematoso sistémico, esclerosis múltiple, enfermedad inflamatoria del intestino (enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa), asma, enfermedad de las vías respiratorias obstructiva crónica, pneumonitis, miocarditis, pericarditis,

5 miositis, eczema, dermatitis (incluyendo dermatitis atópica), alopecia, vitiligo, enfermedades cutáneas bullosas, nefritis, vasculitis, aterosclerosis, enfermedad de Alzheimer, depresión, síndrome de Sjögren, sialoadenitis, oclusión de la vena retinal central, oclusión de la vena retinal ramificada, síndrome de Irvine-Gass (después de cataratas y después de cirugía), retinitis pigmentosa, pars planitis, retinocoroidopatía en perdigonada, membrana epirretinal, edema macular cístico, telangiectasia parafoveal, maculopatías de tracción, síndromes de tracción vitreomacular, desprendimiento de retina, neurorretinitis, edema macular idiopático, retinitis, ojo seco (queratoconjuntivitis seca), queratoconjuntivitis vernal, queratoconjuntivitis atópica, uveítis (tales como uveítis anterior, panuveítis, uveítis posterior, edema macular asociado a uveítis), escleritis, retinopatía diabética, edema macular diabético, distrofia macular relacionada con la edad, hepatitis, pancreatitis, cirrosis biliar primaria, colangitis esclerosante, enfermedad de Addison, hipofisitis, tiroiditis, diabetes de tipo I y rechace agudo de órganos transplantados.

15 Los inhibidores de bromodominio pueden ser útiles en el tratamiento de una amplia diversidad de afecciones inflamatorias agudas tales como gota aguda, arteritis de células gigantes, nefritis incluyendo nefritis de lupus, vasculitis con implicación de órganos tales como glomerulonefritis, vasculitis incluyendo arteritis de células gigantes, granulomatosis de Wegener, Poliarteritis nodosa, enfermedad de Behçet, enfermedad de Kawasaki, arteritis de Takayasu, pioderma gangrenosa, vasculitis con implicación de órganos y rechazo agudo de órganos transplantados.

20 Los inhibidores de bromodominio pueden ser útiles en el tratamiento de enfermedades o afecciones que implican respuestas inflamatorias a infecciones con bacterias, virus, hongos, parásitos o sus toxinas, tales como sepsis, síndrome de sepsis, choque séptico, endotoxemia, síndrome de respuesta inflamatoria sistémico (SIRS), síndrome de choque tóxico, lesión pulmonar aguda, ARDS (síndrome de insuficiencia respiratoria aguda), insuficiencia renal aguda, hepatitis fulminante, quemaduras, pancreatitis aguda, síndromes después de cirugía, sarcoidosis, reacciones de Herxheimer, encefalitis, mielitis, meningitis, malaria y SIRS asociado a infecciones víricas tales como influenza, herpes zóster, herpes simplex y coronavirus.

25 Los inhibidores de bromodominio pueden ser útiles en el tratamiento de afecciones asociadas a lesión por reperfusión por isquemia tales como infarto de miocardio, isquemia cerebro-vascular (apoplejía), síndromes coronarios agudos, lesión por reperfusión renal, transplante de órganos, injerto de derivación de arteria coronaria, procedimientos de derivación cardiopulmonar, embolia pulmonar, renal, hepática, gastrointestinal o de miembro periférico.

30 Los inhibidores de bromodominio pueden ser útiles en el tratamiento de trastornos del metabolismo de lípidos mediante la regulación de APO-A1 tales como hipercolesterolemia, aterosclerosis y enfermedad de Alzheimer.

Los inhibidores de bromodominio pueden ser útiles en el tratamiento de afecciones fibróticas tales como fibrosis pulmonar idiopática, fibrosis renal, constricción después de operación, formación de escaras queloides, esclerodermia (incluyendo morfea) y fibrosis cardíaca.

35 Los inhibidores de bromodominio pueden ser útiles en el tratamiento de infecciones víricas tales como virus herpes virus, virus del papiloma humano, adenovirus y poxvirus y otros virus de ADN.

40 Los inhibidores de bromodominio pueden ser útiles en el tratamiento del cáncer, incluyendo tumores hematológicos (tales como leucemia, linfoma y mieloma múltiple), tumores epiteliales incluyendo carcinomas de pulmón, de mama y de colon, carcinomas de la línea media, tumores mesenquimales, hepáticos, renales y neurológicos.

45 Los inhibidores de bromodominio pueden ser útiles en el tratamiento de uno o más cánceres seleccionados entre cáncer de cerebro (gliomas), glioblastomas, síndrome de Bannayan-Zonana, enfermedad de Cowden, enfermedad de Lhermitte-Duclos, cáncer de mama, cáncer de mama inflamatorio, cáncer colorrectal, tumor de Wilm, sarcoma de Ewing, rabdomiosarcoma, endimoma, meduloblastoma, cáncer de colon, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de riñón, cáncer de pulmón, cáncer de hígado, melanoma, carcinoma de células escamosas, cáncer de ovario, cáncer pancreático, cáncer de próstata, cáncer sarcoma, osteosarcoma, tumor de hueso de células gigantes, cáncer de tiroides, leucemia de células T linfoblástica, leucemia mielógena crónica, leucemia linfocítica crónica, leucemia de células vellosas, leucemia linfoblástica aguda, leucemia mielógena aguda, leucemia neutrófila aguda, leucemia de células T linfoblástica aguda, plasmacitoma, leucemia de células grandes inmunoblásticas, leucemia de células del manto, mieloma múltiple, leucemia megacarioblástica, leucemia megacariocítica aguda, leucemia promielocítica, leucemia de linaje mixta, eritroleucemia, linfoma maligno, linfoma de Hodgkins, linfoma no Hodgkins, linfoma de células T linfoblástico, linfoma de Burkitt, linfoma folicular, neuroblastoma, cáncer de vejiga, cáncer urotelial, cáncer vulvar, cáncer cervical, cáncer endometrial, cáncer renal, mesotelioma, cáncer de esófago, cáncer de glándulas salivares, cáncer hepatocelular, cáncer gástrico, cáncer nasofaríngeo, cáncer bucal, cáncer de la boca, GIST (tumor estromal gastrointestinal) y cáncer testicular.

55

5 En una realización el cáncer es una leucemia, por ejemplo una leucemia seleccionada entre leucemia monocítica aguda, leucemia mielógena aguda, leucemia mielógena crónica, leucemia linfocítica aguda y leucemia de linaje mixto (MLL), En otra realización el cáncer es carcinoma de línea media - NUT. En otra realización el cáncer es mieloma múltiple. En otra realización el cáncer es un cáncer de pulmón tal como cáncer de pulmón de células pequeñas (SCLC). En otra realización el cáncer es un neuroblastoma. En otra realización el cáncer es linfoma de Burkitt. En otra realización el cáncer es cáncer cervical. En otra realización el cáncer es cáncer esofágico. En otra realización el cáncer es cáncer de ovarios. En otra realización el cáncer de mama. En otra realización el cáncer es cáncer colorrectal.

10 En una realización la enfermedad o afección para las que está indicado un inhibidor de bromodominio se selecciona entre enfermedades asociadas a síndrome de respuesta inflamatoria sistémica, tales como sepsis, quemaduras, pancreatitis, trauma importante, hemorragia e isquemia. En esta realización el inhibidor de bromodominio se administraría en el momento de diagnóstico para reducir la incidencia de: SIRS, el comienzo de choque, síndrome de disfunción multiorgánica, que incluye el comienzo de lesión pulmonar aguda, ARDS, lesión renal, hepática, cardíaca o gastrointestinal aguda y mortalidad. En otra realización el inhibidor de bromodominio se
15 administraría antes de los procedimientos quirúrgicos u otros asociados a un alto riesgo de sepsis, hemorragia, daño de tejido extensivo, SIRS o MODS (síndrome de disfunción multiorgánica). En una realización particular la enfermedad o afección para las que está indicado un inhibidor de bromodominio es sepsis, síndrome de sepsis, choque séptico y endotoxemia. En otra realización, el inhibidor de bromodominio está indicado para el tratamiento de pancreatitis aguda o crónica. En otra realización el bromodominio está indicado para el tratamiento de quemaduras.
20

En una realización la enfermedad o afección para las que está indicado un inhibidor de bromodominio se selecciona entre infecciones y reactivaciones por herpes simplex, llagas frías, infecciones y reactivaciones por herpes zóster, varicela, herpes, virus de papiloma humano, virus de inmunodeficiencia humana (HIV), neoplasia cervical, infecciones por adenovirus, incluyendo enfermedad respiratoria aguda, infecciones por poxvirus tales como viruela bovina y viruela y virus de la peste porcina clásica. En una realización particular un inhibidor de bromodominio está indicado para el tratamiento de infecciones por virus de papiloma humano de piel o epitelio cervical. En una realización el inhibidor de bromodominio está indicado para el tratamiento de infección por HIV latente.
25

30 Como se usa en el presente documento la referencia al "tratamiento" de una enfermedad o afección particular incluye la prevención o profilaxis de tal enfermedad o afección.

El término "enfermedades o afecciones para las que está indicado un inhibidor de bromodominio", se pretende que incluya cada una o todas las enfermedades o afecciones anteriores.

La divulgación además proporciona un procedimiento para inhibir un bromodominio que comprende poner en contacto el bromodominio con un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

35 Aunque es posible que para uso en terapia, un compuesto de fórmula (I) así como las sales farmacéuticamente aceptables del mismo se pueden administrar en forma del compuesto químico en bruto, es común presentar el ingrediente activo en forma de una composición farmacéutica.

40 La presente invención por lo tanto proporciona en un aspecto adicional una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable y uno o más vehículos, diluyentes o excipientes. En una realización se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (IA) o una sal farmacéuticamente aceptable y uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables. Los compuestos de fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables, son como se ha descrito anteriormente. El (los) vehículo(s), diluyente(s) o excipiente(s) deben ser aceptables en el sentido de ser compatibles con los otros ingredientes de la composición y no perjudicial(es) para el receptor del (de los) mismo(s). De acuerdo con otro aspecto de la invención también se proporciona un procedimiento para la
45 preparación de una composición farmacéutica que incluye mezclar un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, con uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptable. La composición farmacéutica se puede usar en el tratamiento de cualesquiera de las afecciones descritas en el presente documento.

50 Ya que los compuestos de fórmula (I) se pretenden para uso en las composiciones farmacéuticas será fácil entender que cada uno de ellos preferiblemente se proporciona en forma sustancialmente pura, por ejemplo, al menos puro al 85 %, especialmente al menos puro al 98 % (% en peso para una base en peso).

55 Las composiciones farmacéuticas se pueden presentar en formas de dosificación unitaria que contienen una cantidad predeterminada de ingrediente activo por dosis unitaria. Las composiciones de dosis unitarias preferidas son las que contienen una dosis o subdosis diaria, o una fracción apropiada de las mismas, de un ingrediente

activo. Por lo tanto tales dosis unitarias se pueden administrar más de una vez al día. Las composiciones de dosis unitarias preferidas son las que contienen una dosis o subdosis diaria (para administración más de una vez al día), como se menciona anteriormente en el presente documento, o en una fracción apropiada del mismo, de un ingrediente activo.

- 5 Las composiciones farmacéuticas se pueden adaptar para la administración mediante cualquier vía apropiada, por ejemplo por la vía oral (incluyendo bucal o sublingual), rectal, inhalada, intranasal, tópica (incluyendo bucal, sublingual o transdérmica), ocular (incluyendo tópica, intraocular, subconjuntival, episcleral, sub-Tenon), vaginal o parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular, intravenosa o intradérmica). Tales composiciones se pueden preparar mediante cualquier procedimiento conocido en la técnica de farmacia, por ejemplo poniendo en asociación el ingrediente activo con el (los) vehículo(s) o excipiente(s).

En una realización la composición farmacéutica se adapta para la administración parenteral, particularmente la administración intravenosa.

En una realización la composición farmacéutica se adapta para administración oral.

En una realización la composición farmacéutica se adapta para la administración tópica.

- 15 Las composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración parenteral incluyen soluciones de inyecciones estériles acuosas y no acuosas que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos y solutos que hacen la composición isotónica con la sangre del receptor propuesto; y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes. Las composiciones se pueden presentar en recipientes de dosis unitarias o múltiples, por ejemplo ampollas y viales sellados y se pueden almacenar en condición secada por congelación (liofilizada) que requiere solamente la adición de vehículo líquido estéril, por ejemplo agua para inyecciones, inmediatamente antes de uso. Las soluciones y suspensiones de inyección extemporánea se pueden preparar a partir de polvos, gránulos y comprimidos estériles.

- 20 Las composiciones farmacéuticas adaptadas para administración oral se pueden presentar en forma de unidades discretas tales como cápsulas o comprimidos; polvos o gránulos; soluciones o suspensiones en líquidos acuosos o no acuosos; espumas o batidos comestibles; o emulsiones de aceite en agua o emulsiones de agua en aceite.

- 25 Por ejemplo, para la administración oral en la forma de un comprimido o cápsula, el componente de fármaco activo se puede combinar con un vehículo inerte oral, no tóxico farmacéuticamente aceptable tal como etanol, glicerol, agua y similares. Los polvos adecuados para incorporar en comprimidos o cápsulas se pueden preparar reduciendo el compuesto a un tamaño fino adecuado (por ejemplo, mediante micronización) y mezclando con un vehículo farmacéutico preparado de manera similar tal como un carbohidrato comestible, por ejemplo, almidón o manitol. También puede estar presente agente aromatizante, conservante, de dispersión y colorante.

- 30 Las cápsulas se pueden fabricar mediante la preparación de una mezcla en polvo, como se ha descrito anteriormente y llenando las envolturas de gelatina formadas. Se pueden añadir deslizantes y lubricantes tales como sílice coloidal, talco, estearato de magnesio, estearato de calcio o polietilenglicol sólido a la mezcla de polvo antes de la operación de llenado. También se puede añadir un agente disgregante o solubilizante tal como agar-agar, carbonato de calcio o carbonato de sodio para mejorar la disponibilidad del medicamento cuando se ingiere la cápsula.

- 35 Además, cuando se desea o es necesario, también se pueden incorporar en la mezcla ligandos adecuados, deslizantes, lubricantes, agentes edulcorantes, aromas, agentes disgregantes y agentes colorantes. Ligandos adecuados incluyen almidón, gelatina, azúcares naturales tales como glucosa o beta-lactosa, edulcorantes de maíz, gomas naturales y sintéticas tales como goma arábica, tragacanto o alginato de sodio, carboximetilcelulosa, polietilenglicol, ceras y similares. Lubricantes usados en estas formas de dosificación incluyen oleato de sodio, estearato de sodio, estearato de magnesio, benzoato de sodio, acetato de sodio, cloruro de sodio y similares. Los disgregantes incluyen almidón, metilcelulosa, agar, bentonita, goma xantana y similares. Los comprimidos se formulan, por ejemplo, preparando una mezcla en polvo, granulando o formando bloques, añadiendo un lubricante y disgregante y comprimiendo en comprimidos. Una mezcla de polvo se prepara mezclando el compuesto, de manera adecuada, desmenuzando de manera adecuada con un diluyente o base como se ha descrito anteriormente y opcionalmente, con un aglutinante tal como carboximetilcelulosa, un alginato, gelatina, o polivinilpirrolidona, un retardante de solución tal como parafina, un acelerador de resorción tal como una sal cuaternaria y/o un agente de absorción tales como bentonita, caolín o fosfato dicálcico. La mezcla de polvo se puede granular mediante la humectación con un ligando tal como jarabe, pasta de almidón, mucílago de acacia o soluciones de materiales celulósicos o poliméricos y forzando a través de un tamiz. Como alternativa a la granulación, la mezcla de polvo se puede hacer pasar a través de la máquina de comprimidos y el resultado son bloques formados imperfectamente rotos en gránulos. Los gránulos se pueden lubricar para evitar que se peguen al comprimido formando matrices por medio de la adición de ácido esteárico, una sal de estearato, talco o aceite mineral. La mezcla lubricada

después se comprime en comprimidos. Los compuestos de fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, también se pueden combinar con un vehículo inerte de flujo libre y comprimirse en comprimidos directamente sin ir a través de las etapas de granulación o formación de bloques. Se puede proporcionar un recubrimiento protector transparente u opaco que consiste en una cubierta de sellado de goma laca, un recubrimiento de materiales de azúcar o poliméricos y un recubrimiento de pulido de cera. Se pueden añadir materias colorantes a estos recubrimientos para distinguir diferentes dosificaciones unitarias.

Se pueden preparar fluidos orales tales como solución, jarabes y elixires en forma de dosificación unitaria de manera que una cantidad dada contenga una cantidad predeterminada del compuesto. Los jarabes se pueden preparar disolviendo el compuesto en una solución acuosa aromatizada de manera adecuada, mientras los elixires se preparan por el uso de un vehículo alcohólico no tóxico. Suspensiones se pueden formular mediante dispersando el compuesto en un vehículo no tóxico. También se pueden añadir solubilizantes y emulsionantes tales como alcoholes isoestearílicos etoxilados y éteres de polioxietilensorbitol, conservantes, aditivos de aroma tales como aceite de menta o edulcorantes naturales o sacarina u otros edulcorantes artificiales y similares.

Las composiciones para administración (por ejemplo, administración oral) se pueden diseñar para proporcionar un perfil de liberación modificada de manera que sostenga o de otra manera controle la liberación del agente terapéuticamente activo. Un perfil de liberación modificada del agente terapéuticamente activo se puede obtener mediante el diseño de matrices poliméricas que incorporan diferentes elecciones y propiedades de polímeros biodegradables/bioerosionables (por ejemplo, acetato de poli(etilenvinilo) (EVA), PVA superhidrolizado), hidroxialquilcelulosa (HPC), metilcelulosa (MC), hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), policaprolactona, ácido poli(glicólico), ácido poli(láctico), polianhídrido, de pesos moleculares poliméricos, cristalinidad polimérica, proporciones copoliméricas, condiciones de procesamiento, acabado superficial, geometría, adición de excipiente y recubrimientos poliméricos que potenciarán la difusión, erosión, disolución y ósmosis del fármaco.

Donde sea apropiado, las composiciones de dosificación unitarias para administración oral pueden estar microencapsuladas. La composición se puede preparar para prolongar o sostener la liberación como por ejemplo mediante recubrimiento o incrustación de material particulado en polímeros, cera o similares.

Los compuestos de fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, también se pueden administrar en la forma de sistemas de distribución de liposomas, tales como vesículas unilamelares pequeñas, vesículas unilamelares grandes y vesículas multilamelares. Los liposomas se pueden formar a partir de una diversidad de fosfolípidos, tales como colesterol, estearilamina o fosfatidilcolinas.

Las composiciones farmacéuticas adaptadas para administración tópica se pueden formular en forma de ungüentos, cremas, suspensiones, emulsiones, lociones, polvos, soluciones, pastes, geles, espumas, pulverizaciones, aerosoles o aceites. Tales composiciones farmacéuticas pueden incluir aditivos convencionales que incluyen, pero no se limitan a, conservantes, disolventes para ayudar a la penetración del fármaco, co-disolventes, emolientes, propulsores, agentes de modificación de la viscosidad (agentes gelificantes), tensioactivos y vehículos. En una realización se proporciona una composición farmacéutica adaptada para la administración tópica que comprende entre el 0,01 - 10 %, o entre el 0,01 - 1 % del compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en peso de la composición.

Para los tratamientos del ojo u otros tejidos externos, por ejemplo boca y piel, las composiciones se aplican preferiblemente en forma de un ungüento tópico, crema, gel, pulverización o espuma. Cuando se formula en un ungüento, el ingrediente activo se puede emplear bien con una base parafínica o bien con una base de ungüento miscible en agua. Como alternativa, el ingrediente activo 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 las administraciones tópicas al ojo incluyen gotas de ojos en los que se disuelve o suspende el ingrediente activo en un vehículo adecuado, especialmente un disolvente acuoso. Las composiciones a administrarse al ojo tendrán pH y osmolaridad oftálmicamente compatible. Uno o más agentes de ajuste de pH y/o agentes de tamponación oftálmicamente aceptables se pueden incluir en una composición de la invención, incluyendo ácidos tales como ácidos acético, bórico, cítrico, láctico, fosfórico y clorhídrico; bases tales como hidróxido de sodio, fosfato de sodio, borato de sodio, citrato de sodio, acetato de sodio y lactato de sodio; y tampones tales como citrato/dextrosa, bicarbonato de sodio y cloruro de amonio. Tales ácidos, bases y tampones se pueden incluir en una cantidad requerida para mantener el pH de la composición en un intervalo oftálmicamente aceptable. Se pueden incluir una o más sales oftálmicamente aceptables en la composición en una cantidad suficiente para llevar la osmolaridad de la composición a un intervalo oftálmicamente aceptable. Tales sales incluyen las que tienen cationes de sodio, potasio o amonio y aniones de cloruro, citrato, ascorbato, borato, fosfato, bicarbonato, sulfato, tiosulfato o bisulfito.

El dispositivo de administración ocular se puede diseñar para la liberación controlada de uno o más agentes terapéuticos con velocidades de liberación múltiples definidas y cinética y permeabilidad de dosis sostenidas.

Las composiciones farmacéuticas para administración ocular también incluyen una composición acuosa que puede gelificar in situ. Una composición de este tipo comprende un agente gelificante en una concentración eficaz para promover la gelificación en contacto con el ojo o con el fluido lagrimal. Los agentes gelificantes adecuados incluyen pero no se limitan a polímeros de termofijación. El término "que puede gelificar in situ" como se usa en el presente documento incluye no solamente líquidos de baja viscosidad que forman geles con el ojo o con el fluido lagrimal, sino que también incluye líquidos más viscosos tales como geles semifluidos y tixotrópicos que muestran sustancialmente una viscosidad aumentada o rigidez del gel tras la administración al ojo. Véase, por ejemplo, Ludwig (2005) Adv. Drug Deliv. Rev. 3; 57: 1595 - 639, incorporado en el presente documento por referencia para propósitos de sus enseñanzas de los ejemplos de polímeros para uso en la administración ocular del fármaco.

- 5
- 10 Las formas de dosificación para la administración nasal o inhalada se pueden formular de manera conveniente en forma de aerosoles, soluciones, suspensiones, geles o polvos secos.

Para las composiciones adecuadas y/o adaptadas para administración inhalada, se prefiere que el compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, esté en una forma de tamaño de partícula reducida por ejemplo, obtenida por micronización. El tamaño de partícula preferido del compuesto o sal reducido de tamaño (por ejemplo, micronizado) se define por un valor de D50 de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 10 micrómetros (por ejemplo como se miden usando difracción por láser).

- 15

Las formulaciones de aerosol, *por ejemplo*, para administración inhalada pueden comprender una solución o suspensión fina de la sustancia activa en un disolvente acuoso o no acuoso farmacéuticamente aceptable. Las formulaciones de aerosol se pueden presentar en cantidades individuales o de dosis múltiples en forma estéril en un recipiente sellado, que puede tomar la forma de un cartucho o repuesto para uso con un dispositivo de atomización o inhalador. De manera alternativa el recipiente sellado puede ser un dispositivo de dispensación unitario tal como un inhalador nasal de dosis individual o un dispensador de aerosol equipado con una válvula de medición (inhalador de dosis medida) que se pretende desechar una vez se han agotado los contenidos del recipiente.

- 20

Donde la forma de dosificación comprende un dispensador de aerosol, preferentemente contiene un propulsor adecuado a presión tal como aire comprimido, dióxido de carbono o un propulsor orgánico tal como un hidrofluorocarbono (HFC). Propulsores de HFC adecuados incluyen 1,1,1,2,3,3,3-heptafluoropropano y 1,1,1,2-tetrafluoroetano. Las formas de dosificación de aerosol también pueden tener la forma de un atomizador de bomba. El aerosol presurizado puede contener una solución o una suspensión del compuesto activo. Esto puede requerir la incorporación de excipientes adicionales por ejemplo, codisolventes y/o tensioactivos para mejorar las características de dispersión y homogeneidad de las formulaciones en suspensión. Las formulaciones en solución requieren la adición de co-disolventes tales como etanol.

- 25
- 30

Para las composiciones farmacéuticas adecuadas y/o adaptadas para la administración inhalada, la composición farmacéutica puede ser una composición de polvo seco inhalable. Tal composición puede comprender una base en polvo tal como lactosa, glucosa, trehalosa, manitol o almidón, el compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (preferiblemente en forma de tamaño de partícula reducido, por ejemplo, en forma micronizada) y opcionalmente un modificador de comportamiento tales como L-leucina u otro aminoácido y/o sal de metal de ácido esteárico tal como estearato de magnesio o de calcio. Preferiblemente, la composición de polvo seco inhalable comprende una mezcla de polvo seco de lactosa por ejemplo monohidrato de lactosa y el compuesto de fórmula (I) o sal del mismo. Tales composiciones se pueden administrar al paciente usando un dispositivo adecuado tal como el dispositivo DISKUS®, comercializado por GlaxoSmithKline que se describe por ejemplo en el documento GB 2242134 A.

- 35
- 40

Los compuestos de fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos se pueden formular como una formulación fluida para la administración de un dispensador de fluido, por ejemplo un dispensador de fluido que tiene una boquilla de dispensación u orificio de dispensación a través del que se dispensa una dosis medida de la formulación de fluido tras la aplicación de una fuerza aplicada por el usuario a un mecanismo de bomba del dispensador de fluido. Tales dispensadores de fluido se proporcionan en general con un depósito de dosis medidas múltiples de la formulación del fluido, siendo las dosis dispensables tras las actuaciones de la bomba secuenciales. La boquilla u orificio de dispensación se puede configurar para inserción en los orificios nasales del usuario para dispensación por pulverización de la formulación de fluido en la cavidad nasal. Un dispensador de fluido del tipo anteriormente mencionado se describe e ilustra en el documento WO-A-2005/044354.

- 45
- 50

Una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, dependerá del número de factores incluyendo, por ejemplo, la edad y peso del sujeto, la afección precisa que requiere tratamiento y su gravedad, la naturaleza de la formulación y la vía de administración y por último estará a la discreción del médico o veterinario asistente. En la composición farmacéutica, cada unidad de dosificación oral o administración parenteral preferiblemente contiene entre 0,01 y 3000 mg, más preferiblemente

- 55

0,5 a 1000 mg, de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, calculado como la base libre. Cada unidad de dosificación para administración nasal o inhalada preferiblemente contiene entre 0,001 y 50 mg, más preferiblemente 0,01 a 5 mg, de un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, calculada como la base libre.

- 5 Los compuestos farmacéuticamente aceptables de fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, se pueden administrar en una dosis diaria (para un paciente adulto) de, por ejemplo, una dosis oral o parenteral de 0,01 mg a 3000 mg al día, 0,5 a 1000 mg al día o 100 mg a 2500 mg al día, o una dosis nasal o inhalada de 0,001 a 50 mg al día o 0,01 a 5 mg al día, del compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, calculada como la base libre. Esta cantidad se puede proporcionar en una dosis individual al día o más usualmente en un número (tales como dos, tres, cuatro, cinco o seis) de sub-dosis al día de manera que la dosis diaria es la misma. Una cantidad eficaz o una sal de la misma, se puede determinar como una proporción de la cantidad eficaz del compuesto de fórmula (I) *per se*.

15 Los compuestos de fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, se pueden emplear solos o en combinación con otros agentes terapéuticos. Las terapias de combinación de acuerdo con la presente invención de este modo comprenden la administración de al menos un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y el uso de al menos otro agente terapéuticamente activo. Preferiblemente, las terapias de combinación de acuerdo con la presente invención comprenden la administración de al menos un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y al menos otro agente terapéuticamente activo. El (los) compuesto(s) de fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos y el (los) otro(s) agente(s) terapéuticamente activo(s) se pueden administrar conjuntamente en una composición farmacéutica individual o de manera separada y cuando se administran de manera separada esto puede ocurrir simultáneamente o separadamente en cualquier orden. Las cantidades del (de los) compuesto(s) de fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables del (de los) mismo(s) y el (los) otro(s) agente(s) terapéuticamente activo(s) y los momentos relativos de administración se seleccionará(n) con el fin de lograr el efecto terapéutico combinado deseado. De este modo en un aspecto adicional, se proporciona una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y al menos otro agente terapéuticamente activo.

20 De este modo en un aspecto, el compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y las composiciones farmacéuticas que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, de acuerdo con la invención se pueden usar en combinación con o incluir uno o más agentes terapéuticos diferentes, por ejemplo seleccionados entre antibióticos, anti-víricos, glucocorticosteroides, antagonistas muscarínicos, agonistas beta-2 y análogos de la Vitamina D3. En una realización adicional un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se puede usar en combinación con un agente terapéutico adicional que es adecuado para el tratamiento de cáncer. Ejemplos de tales agentes terapéuticos adicionales se describen en Cancer Principles and Practice of Oncology por V.T. Devita and S. Hellman (editores), 6ª edición (2001), Lippincott Williams & Wilkins Publishers. Un experto en la técnica sería capaz de discernir qué combinaciones de agentes serían útiles basándose en las características particulares de los fármacos y el cáncer implicado. Agentes terapéuticos adicionales a usarse en combinación con el compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo incluyen, pero no se limitan a, agentes anti-microtúbulos (tales como diterpenoides y alcaloides vinca); complejos de coordinación de platino; agentes de alquilación (tales como mostazas de nitrógeno, oxazafosforinas, sulfonatos de alquilo, nitrosoureas y triazenos); agentes antibióticos (tales como antraciclina, actinomicinas y bleomicinas); inhibidores de la topoisomerasa II (tales como epipodofilotoxinas); antimetabolitos (tales como análogos de purina y pirimidina y compuestos antifolato); inhibidores de la topoisomerasa I (tales como canfotecinas; hormonas y análogos hormonales); inhibidores de la ruta de transducción de señales (tales como inhibidores del receptor de tiroxina); inhibidores de la angiogénesis de la tirosina quinasa no receptora; agentes inmunoterapéuticos; agentes proapoptóticos; moduladores epigenéticos o de transcripción (tales como inhibidores de la histona desacetilasa) e inhibidores de señalización del ciclo celular.

50 Se apreciará que cuando el compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra en combinación con otros agentes terapéuticos normalmente administrados por la vía inhalada, intravenosa, oral o intranasal, la composición farmacéutica resultante se puede administrar por las mismas vías. De manera alternativa los componentes individuales de la composición se pueden administrar por vías diferentes.

Una realización de la invención abarca las combinaciones que comprenden uno o dos agentes terapéuticos diferentes.

- 55 Será evidente para las personas expertas en la técnica que, donde sea apropiado, el (los) otro(s) ingrediente(s) terapéutico(s) se puede(n) usar en la forma de sales, por ejemplo como sales de metal alcalino o de amina o como sales de adición de ácido, o profármacos, o como ésteres, por ejemplo ésteres de alquilo inferiores, o como

solvatos, por ejemplo hidratos, para optimizar la actividad y/o estabilidad y/o características físicas, tales como solubilidad, del ingrediente terapéutico. También será evidente que, donde sea apropiado, los ingredientes terapéuticos se pueden usar en forma ópticamente pura.

5 Las combinaciones mencionadas anteriormente se pueden presentar de manera conveniente para uso en la forma de una composición farmacéutica y de este modo las composiciones farmacéuticas que comprenden una combinación como se ha definido anteriormente conjuntamente con un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable representan un aspecto adicional de la invención.

10 Los compuestos de fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, se pueden preparar mediante los procedimientos descritos más adelante o mediante procedimientos similares. De este modo los siguientes Intermedios y Ejemplos sirven para ilustrar la preparación de los compuestos de fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos y no se deben considerar como limitantes del ámbito de la invención de ninguna forma.

Detalles experimentales generales

Todas las temperaturas mencionadas están en °C.

15 Los nombres de los siguientes compuestos se han obtenido usando el programa de nombre del compuesto "ACD Name Pro 6.02" o Chem Draw Ultra 12.0.

Abreviaturas

	1,2-DCE	1,2-Dicloroetano
	AcOH	Ácido acético
20	CHCl ₃	Cloroformo
	D6-DMSO	Dimetilsulfóxido deuterado
	DCM	Diclorometano
	DIPEA	Diisopropilamina
	DMSO	Dimetilsulfóxido
25	DPPA	Difenilfosforilo azida
	Et ₃ N	Trietilamina
	EtOAc	Acetato de etilo
	h	Hora(s)
	HATU	Hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio
30	HCl	Ácido clorhídrico
	i-PrOac	Acetato de isopropilo
	i-Pr ₂ O	Diisopropil éter
	CLEM	Cromatografía líquida–espectrometría de masas
	LiOH	Hidróxido de litio
35	M	Molar (concentración)
	MeCN	Acetonitrilo
	MeOH	Metanol
	min	Minuto(s)
	N	Normal (concentración)
40	Na ₂ CO ₃	Carbonato de sodio

Na ₂ SO ₄	Sulfato de sodio
Pd/C	Paladio sobre carbono
T. de R.	Tiempo de retención
TBME	Éter metílico de butilo terciario
5 TFA	Ácido trifluoroacético
THF	Tetrahidrofurano
UPLC	Cromatografía líquida de alto rendimiento

Metodología CLEM

Formato del procedimiento

10 **Condiciones de LC**

El análisis de UPLC se llevó a cabo sobre una columna Acquity UPLC BEH C18 (50 mm x 2,1 mm, i.d. 1,7 µm de diámetro de empaquetamiento) a 40 °C.

Los disolventes empleados fueron:

A = solución al 0,1 % v/v de ácido fórmico en agua

15 B = solución al 0,1 % v/v de ácido fórmico en acetonitrilo

El gradiente empleado fue:

Tiempo (min)	Caudal (ml/min)	% de A	% de B
0	1	97	3
1,5	1	0	100
1,9	1	0	100
2,0	1	97	3

La detección UV era una señal sumada de longitud de onda 210 nm a 350 nm.

Condiciones de EM

EM: Waters ZQ

20 Modo de ionización: barrido positivo alternado y electropulverización negativa

Intervalo de barrido: 100 a 1000 AMU

Tiempo de barrido: 0,27 seg

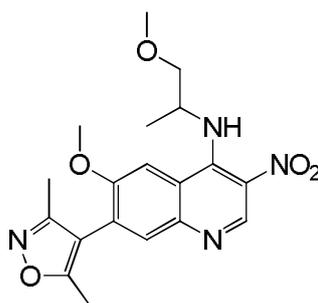
Demora entre barrido: 0,10 seg

RMN

25 Los espectros se corrieron en una máquina de RMN de 400 MHz bien a 302 K o bien para los espectros VT a 392-393 K.

Intermedio 1

7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-6-metoxi-N-(1-metoxipropan-2-il)-3-nitroquinolin-4-amina



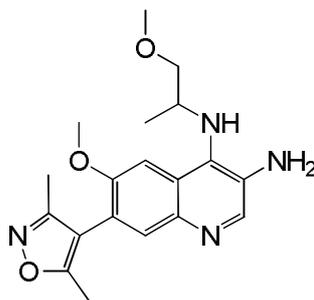
5 A una solución de 4-(4-cloro-6-metoxi-3-nitroquinolin-7-il)-3,5-dimetilisoxazol (Manchester Organics) (20 g, 59,9 mmol) en 1,4-dioxano (200 ml) se añadió 1-metoxipropan-2-amina (31,6 ml, 300 mmol) y la mezcla de reacción se calentó a 70 °C durante 1,5 h. El disolvente se retiró a presión reducida y el sólido resultante se repartió entre acetato de etilo (3 x 750 ml) y agua (750 ml). Se combinaron las fases orgánicas, se secaron (material sinterizado hidrófobo) y se evaporaron a presión reducida proporcionando 7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-6-metoxi-N-(1-metoxipropan-2-il)-3-nitroquinolin-4-amina (25,8 g), que se usó sin purificación adicional en la siguiente etapa.

RMN (D_6 -DMSO): δ H 9,03 (s, 1H), 8,63 (d, 1H), 7,83 (s, 1H), 7,81 (s, 1H), 4,39 (m, 1H), 3,97 (s, 3H), 3,54 (m, 2H), 3,27 (s, 3H), 2,34 (s, 3H), 2,15 (s, 3H), 1,41 (d, 3H).

10 CLEM (formato): T. de R. = 0,97 min, MH^+ 387.

Intermedio 2

7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-6-metoxi-N4-(1-metoxipropan-2-il)quinolina-3,4-diamina



15 Se disolvió 7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-6-metoxi-N-(1-metoxipropan-2-il)-3-nitroquinolin-4-amina (para una preparación véase el Intermedio 1) (25,8 g, 66,8 mmol) en una mezcla de acetato de etilo (1000 ml) y DMSO (50 ml) y la solución se hidrogenó usando un aparato de hidrogenación de flujo (H-cube™) (ajustes: 20 °C, 1 bar (100 kPa), 1 ml/min de caudal) y un cartucho de catalizador del 10 % de Pd/C CatCart de 70. El cartucho de catalizador se cambió siempre que se llegaba a bloquear. La mezcla de reacción se evaporó a presión reducida y se repartió entre acetato de etilo (750 ml) y agua (3 x 750 ml). Se combinaron las fases acuosas y se extrajeron con acetato de etilo (750 ml). Se combinaron las fases orgánicas, se secaron (material sinterizado hidrófobo) y se evaporaron a presión reducida. El residuo se disolvió en DCM y se aplicó a un cartucho de sílice (100 g). El cartucho se eluyó con un gradiente de amoníaco 2 M en metanol/DCM (0 - 4 %). Se combinaron las fracciones apropiadas y se evaporaron a presión reducida proporcionando 7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-6-metoxi-N4-(1-metoxipropan-2-il)quinolina-3,4-diamina y se recuperó 7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-6-metoxi-N-(1-metoxipropan-2-il)-3-nitroquinolin-4-amina (6,5 g).

El material de partida recuperado se disolvió en acetato de etilo (250 ml) y la solución se hidrogenó usando un aparato de hidrogenación de flujo (H-cube™) (ajustes: 20 °C, 1 bar (100 kPa), 1 ml/min de caudal) y cartucho de catalizador del 10 % de Pd/C CatCaT. de R. 70. La mezcla de reacción se evaporó a presión reducida y el residuo se disolvió en DCM y se aplicó a un cartucho de sílice (100 g). El cartucho se eluyó con un gradiente de amoníaco 2 M en metanol/DCM (0-4 %). Se combinaron las fracciones apropiadas y se evaporaron a presión reducida proporcionando 7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-6-metoxi-N4-(1-metoxipropan-2-il)quinolina-3,4-diamina.

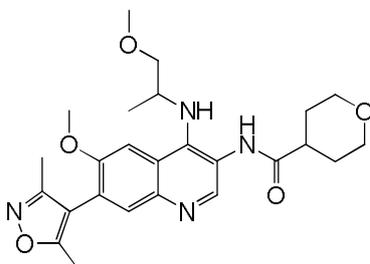
Se combinaron los lotes del producto proporcionando 7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-6-metoxi-N4-(1-metoxipropan-2-il)quinolina-3,4-diamina (15,6 g, 43,8 mmol, 65,6 % de rendimiento) en forma de una goma de color marrón oscuro pegajosa.

35 RMN (D_6 -DMSO): δ H 8,29 (s, 1H), 7,55 (s, 1H), 7,45 (s, 1H), 5,13 (s, 2H), 4,48 (d, 1H), 3,88 (s, 3H), 3,54 (m, 1H),

3,35 (m, 2H), 3,29 (s, 3H), 2,30 (s, 3H), 2,10 (s, 3H), 1,18 (d, 3H). CLEM (formato): T. de R. 0,73 min, MH⁺ 357.

Intermedio 3

N-(7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-6-metoxi-4-((1-metoxipropan-2-il)amino)quinolin-3-il)tetrahydro-2H-piran-4-carboxamida



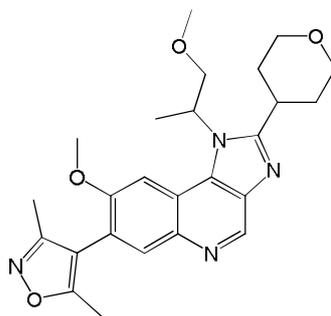
5

Una solución de 7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-6-metoxi-N4-(1-metoxipropan-2-il)quinolina-3,4-diamina (para una preparación véase el Intermedio 2) (9,1 g) en DCM (300 ml) se trató con piridina (30 ml) y cloruro de tetrahydro-2H-piran-4-carbonilo (5,0 ml) y la solución se agitó en nitrógeno a temperatura ambiente durante 3,5 h y después se dejó en reposo durante toda una noche (temperatura ambiente, en nitrógeno). Se evaporaron los productos volátiles *al vacío* y el residuo se repartió entre DCM y agua. Se lavó la fase orgánica con agua 2 veces y los productos acuosos combinados se extrajeron con DCM. Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron (material sinterizado hidrófobo) y se redujeron hasta sequedad *al vacío*. Las fases acuosas combinadas incluyendo el lavado de salmuera (~pH 4) se basificaron con carbonato ácido de sodio sólido y los productos acuosos combinados se extrajeron con DCM dos veces. Se secaron las fracciones orgánicas (material sinterizado hidrófobo), se combinaron con el material previo y se redujeron hasta sequedad *al vacío* proporcionando una espuma de color marrón. Esta espuma se secó adicionalmente después *al vacío*, se trituró con dietil éter, se enfrió la suspensión (baño de hielo/agua) y el sólido se aisló por filtración. El sólido se lavó con un poco de dietil éter y se secó al aire proporcionando N-(7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-6-metoxi-4-((1-metoxipropan-2-il)amino)quinolin-3-il)tetrahydro-2H-piran-4-carboxamida en forma de un sólido de color beige (11,95 g, 100 %).

20 RMN (D₆-DMSO): δ H 9,49 (s, 1H), 8,38 (s, 1H), 7,70 (s, 1H), 7,63 (s, 1H), 5,33 (d, 1H), 3,96 - 3,90 (m, 6H), 3,43 - 3,28 (m parcialmente oscurecido por agua, 7H), 2,69 (m, 1H), 2,32 (s, 3H), 2,12 (s, 3H), 1,81 - 1,67 (m, 4H), 1,19 (d, 3H). CLEM (formato): T. de R. 0,69 mins, MH⁺ 469.

Ejemplo 1

25 4-(8-metoxi-1-(1-metoxipropan-2-il)-2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-il)-3,5-dimetilisoxazol



30 Una suspensión de N-(7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-6-metoxi-4-((1-metoxipropan-2-il)amino)quinolin-3-il)tetrahydro-2H-piran-4-carboxamida (para una preparación véase el Intermedio 3) (29,4 g, 62,7 mmol) en ácido acético (250 ml, 62,7 mmol) se calentó a 120 °C durante 2 h. Se añadieron tamices moleculares de 3 Å (20 g) y se continuó el calentamiento durante 3,5 h. Después se añadieron tamices moleculares de 3 Å (20 g, secados al horno) y se continuó el calentamiento durante toda una noche. Después se añadieron tamices moleculares de 3 Å (20 g, secados al horno) y se continuó el calentamiento durante 24 h adicionales.

35 La mezcla de reacción se dejó enfriar hasta temperatura ambiente y se retiró el sólido mediante filtración. El residuo y el filtrado se combinaron y se evaporaron a presión reducida. Se añadió agua (3 l) y la suspensión resultante se neutralizó mediante la adición lenta de carbonato ácido de sodio sólido. La suspensión acuosa se extrajo con DCM (3 x 1 l) y se combinaron las fases orgánicas, se secaron (material sinterizado hidrófobo) y se

evaporaron a presión reducida proporcionando una goma de color marrón.

La goma se disolvió con calentamiento y sonicación en una cantidad mínima de DCM. La solución se aplicó a una columna de sílice (750 g) que se había humedecido previamente con DCM. La columna se eluyó con un gradiente de [amoníaco 2 M en metanol, metanol (3:1)]/DCM (0~8 %). Las fracciones del producto se combinaron y se redujeron hasta sequedad a presión reducida proporcionando una espuma cremosa/vidrio (13,027 g).

Las fracciones del producto mezcladas se combinaron y se redujeron hasta sequedad a presión reducida proporcionando un aceite de color amarillo intenso. Este aceite se disolvió en dietil éter y los compuestos volátiles se evaporaron *al vacío* proporcionando un sólido de color amarillo. El sólido se trituró con dietil éter, el sólido se aisló por filtración y se lavó con dietil éter (x 2) proporcionando 4-(8-metoxi-1-(1-metoxipropan-2-il)-2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-il)-3,5-dimetilisoaxazol.

La espuma cremosa/vidrio se trituró con dietil éter/acetato de etilo, la mezcla se redujo hasta sequedad a presión reducida y la trituración se repitió con dietil éter. La fracción del producto previa se añadió a la suspensión y la mezcla se envejeció durante toda una noche. Se aisló el sólido por filtración y se lavó con dietil éter proporcionando 4-(8-metoxi-1-(1-metoxipropan-2-il)-2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-il)-3,5-dimetilisoaxazol en forma de un sólido cremoso. El sólido se secó *al vacío* y se volvió a triturar con dietil éter con agitación durante ~30 min. Se aisló el sólido por filtración y se lavó con dietil éter. El sólido se secó *al vacío* proporcionando 4-(8-metoxi-1-(1-metoxipropan-2-il)-2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-il)-3,5-dimetilisoaxazol en forma de un sólido de color blanco (11,73 g).

VT RMN (D₆-DMSO): δ H 9,04 (s, 1H), 7,99 (s, 1H), 7,74 (s, 1H), 5,45 (m, 1H), 4,14 (m, 1H), 4,06 - 4,01 (m, 6H), 3,62 (m, 2H), 3,47 (m, 1H), 3,28 (s, 3H), 2,35 (s, 3H), 2,17 (s, 3H), 2,09 (m, 2H), 1,92 (m, 2H), 1,83 (d, 3H). CLEM (formato): T. de R. 0,76 min, MH⁺ 451.

Ejemplo 1 – preparación alternativa

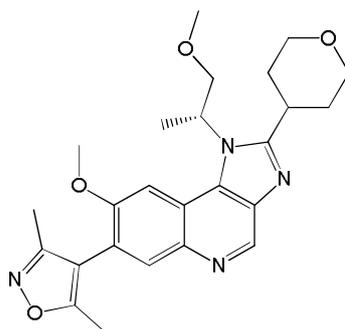
4-(8-metoxi-1-(1-metoxipropan-2-il)-2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-il)-3,5-dimetilisoaxazol

Una mezcla de N-(7-(3,5-dimetilisoaxazol-4-il)-6-metoxi-4-((1-metoxipropan-2-il)amino)quinolin-3-il)tetrahydro-2H-piran-4-carboxamida (para una preparación véase el Intermedio 3) (11,95 g, 25,5 mmol) y ácido p-toluenosulfónico (1,2 g, 25,5 mmol) en tolueno (250 ml) se calentó en nitrógeno a reflujo usando un aparato Dean-Stark durante 3 días. Se añadió ácido p-toluenosulfónico adicional (0,2 g, 4,3 mmol) y se continuó el calentamiento durante toda una noche. Se añadió agua (750 ml) y la mezcla se basificó hasta pH 8 usando solución acuosa saturada de carbonato ácido de sodio. La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 750 ml), se combinaron las fases orgánicas, se secaron (material sinterizado hidrófobo) y se evaporaron a presión reducida. El sólido residual se trituró en éter (~200 ml), se sonicó brevemente. La mayoría del sólido parecía ser un polvo fino. Se decantó el polvo fino suspendido en el éter, el sólido se aisló por filtración y se secó en un horno de vacío proporcionando 4-(8-metoxi-1-(1-metoxipropan-2-il)-2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-il)-3,5-dimetilisoaxazol en bruto (6,3 g). Este material se trituró en éter (~ 100 ml), se sonicó brevemente y se dejó durante toda una noche a temperatura ambiente. Se aisló el sólido por filtración y se secó en un horno al vacío 4-(8-metoxi-1-(1-metoxipropan-2-il)-2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-il)-3,5-dimetilisoaxazol (4,9 g, 10,88 mmol, 42,6 % de rendimiento). CLEM (formato): T. de R. 0,75 min, MH⁺ 451.

El sólido agrupado obtenido de la decantación se trituró en éter (100 ml), se sonicó durante 15 min y se mantuvo a temperatura ambiente durante 3 días. Se aisló el sólido por filtración y se secó en un horno al vacío proporcionando 4-(8-metoxi-1-(1-metoxipropan-2-il)-2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-il)-3,5-dimetilisoaxazol (3,6 g, 7,99 mmol, 31,3 % de rendimiento). CLEM (formato): T. de R. 0,76 min, MH⁺ 451.

Ejemplo 2

4-(8-metoxi-1-((R)-1-metoxipropan-2-il)-2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-il)-3,5-dimetilisoaxazol



La resolución quiral de 4-(8-metoxi-1-((S)-1-metoxipropan-2-il)-2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-il)-3,5-dimetilisoxazol se llevó a cabo usando las siguientes condiciones:

Columna: Chiralpak AD-H (250 x 30 mm, 5 micrómetros) [ADH10029-01]

5 Caudal: 45 ml/min

Detección: UV DAD (300 nm (anchura de banda 180 nm, referencia 550 nm (anchura de banda 100 nm)).

Fase móvil A: N-hexano (10 ml de isopropilamina por Winchester (2,5 l))

Fase móvil B: etanol (10 ml de isopropilamina por Winchester (2,5 l))

Sistema isocrático – 85:15 fase móvil A:B

10 Tiempo de funcionamiento - aproximadamente 35 min

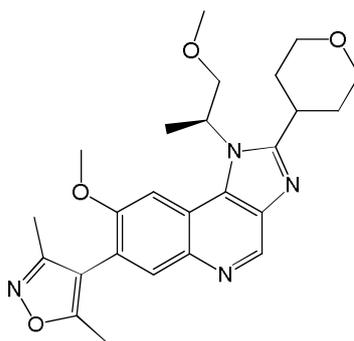
Se suspendió 4-(8-metoxi-1-((S)-1-metoxipropan-2-il)-2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-il)-3,5-dimetilisoxazol (500 mg) en etanol y etilenglicol (10 ml:5 ml) y después se sonicó y se calentó para ayudar a la solución. Después se añadió isopropilamina (1 ml). Se calentó esta solución de trabajo sobre una placa caliente (60 °C) mientras la purificación continuaba para mantener la solución. Se realizaron inyecciones (1,5 ml) usando un automuestreador. Las fracciones se recogieron usando un recolector de fracciones de lecho de embudo en base al tiempo entre 28 min y 35 min. Las soluciones de las fracciones combinadas se evaporaron hasta sequedad usando un evaporador rotatorio (30 °C de temperatura del baño) y el residuo se transfirió a un vial de vidrio tarado de 20 ml usando etanol (aproximadamente 12 ml). El etanol se evaporó en una corriente de gas nitrógeno (temperatura ambiente).

20 4-(8-metoxi-1-((S)-1-metoxipropan-2-il)-2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-il)-3,5-dimetilisoxazol (1,16 g) aislado usando el procedimiento anterior se trituró con dietil éter (~3 ml) durante ~4 h a temperatura ambiente. Se aisló el sólido por filtración, se lavó con dietil éter y se secó *al vacío* proporcionando 4-(8-metoxi-1-((S)-1-metoxipropan-2-il)-2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-il)-3,5-dimetilisoxazol en forma de un sólido cremoso (0,96 g).

25 VT RMN (D_6 -DMSO): δ H 9,03 (s, 1H), 7,98 (s, 1H), 7,74 (s, 1H), 5,43 (m, 1H), 4,13 (m, 1H), 4,04 - 4,00 (m, 6H), 3,61 (m, 2H), 3,46 (m, 1H), 3,28 (s, 3H), 2,35 (s, 3H), 2,16 (s, 3H), 2,08 (m, 2H), 1,92 (m, 2H), 1,82 (d, 3H), CLEM (formato): T. de R. 0,76 min, MH^+ 451.

Ejemplo 3

30 **4-(8-metoxi-1-((S)-1-metoxipropan-2-il)-2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-il)-3,5-dimetilisoxazol**



La resolución quiral de 4-(8-metoxi-1-((R)-1-metoxipropan-2-il)-2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-il)-3,5-dimetilisoxazol se llevó a cabo usando las siguientes condiciones:

Columna: Chiralpak AD-H (250 x 30 mm, 5 micrómetros) [ADH10029-01]

5 Caudal: 45 ml/min

Detección: UV DAD (300 nm (anchura de banda 180 nm, referencia 550 nm (anchura de banda 100 nm)).

Fase móvil A: heptano

Fase móvil B: etanol

Sistema isocrático – 85:15 fase móvil A:B

10 Tiempo de funcionamiento – aproximadamente 35 min

Se disolvió 4-(8-metoxi-1-((R)-1-metoxipropan-2-il)-2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-il)-3,5-dimetilisoxazol (85 mg) en etanol (aproximadamente 4 ml) con calentamiento y sonicación. Después se realizaron inyecciones (400 μ l) mediante jeringa de plástico. Las fracciones entre 24 min y 26,5 min se recogieron y las soluciones de fracciones combinadas se evaporaron hasta sequedad usando un evaporador rotatorio (30 °C de temperatura de baño). El residuo se transfirió a un vial de vidrio tarado usando etanol (aproximadamente 12 ml). Después se retiró el disolvente por evaporación en una corriente de gas nitrógeno (temperatura ambiente) proporcionando 4-(8-metoxi-1-((S)-1-metoxipropan-2-il)-2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-il)-3,5-dimetilisoxazol (38 mg).

20 VT RMN (D_6 -DMSO): δ H 9,00 (s, 1H), 7,95 (s, 1H), 7,72 (s, 1H), 5,41 (m, 1H), 4,10 (m, 1H), 4,03 - 3,97 (m, 6H), 3,59 (m, 2H), 3,45 (m, 1H), 3,26 (s, 3H), 2,32 (s, 3H), 2,13 (s, 3H), 2,07 (m, 2H), 1,90 (m, 2H), 1,80 (d, 3H), CLEM (formato): T. de R. 0,73 min, MH^+ 451.

Ejemplo 4

Preparación de una forma cristalina de 4-(8-metoxi-1-((R)-1-metoxipropan-2-il)-2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-il)-3,5-dimetilisoxazol (forma anhidra 1)

25 Se disolvió 4-(8-metoxi-1-((R)-1-metoxipropan-2-il)-2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-il)-3,5-dimetilisoxazol (para una preparación véase Ejemplo 2 o esquema de reacción 1, 18,87 g) en acetato de isopropilo (95 ml) a reflujo y después se dejó enfriar hasta 20 °C durante 1 hora. Después se añadió ciclohexano (190 ml) durante 1 hr y la suspensión resultante se envejeció durante 1 hr. Después se filtró la suspensión y se lavó con 2:1 ciclohexano:acetato de isopropilo (30 ml) y después ciclohexano (30 ml) antes de llevarse a seco. Después la torta se secó al horno durante toda una noche a 40 °C al vacío. Se registró una XRPD sobre este material (véase el Ejemplo 9).

Ejemplo 5

Preparación de una forma cristalina de 4-(8-metoxi-1-((R)-1-metoxipropan-2-il)-2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-il)-3,5-dimetilisoxazol (forma anhidra 2)

35 Se añadió una solución premezclada de acetato de isopropilo (211 ml) y ciclohexano (422 ml) a 4-(8-metoxi-1-((R)-1-metoxipropan-2-il)-2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-il)-3,5-dimetilisoxazol (para una preparación véase Ejemplo 2 o esquema de reacción 1, 42,19 g, 94 mmol). La suspensión resultante se agitó durante 24 horas, se filtró, el sólido resultante se lavó (1x ciclohexano:acetato de isopropilo (2:1, 180 ml), 1x ciclohexano (180 ml), 1x TBME (180 ml)), se llevó hasta sequedad y se secó *al vacío* a 40 °C hasta peso constante

proporcionando un sólido de color casi blanco (90 % de rendimiento). Se registró un XRPD sobre este material (véase el Ejemplo 9).

Ejemplo 6

5 Preparación de una forma cristalina de 4-(8-metoxi-1-((R)-1-metoxipropan-2-il)-2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-il)-3,5-dimetilisoaxazol (hidrato)

Una solución premezclada de etanol (2,000 ml) y agua (8,00 ml) se añadió a 4-(8-metoxi-1-((R)-1-metoxipropan-2-il)-2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-il)-3,5-dimetilisoaxazol (para una preparación véase el Ejemplo 2 o esquema de reacción 1, 1,00 g, 2,220 mmol) y la suspensión resultante se agitó durante toda una noche. La suspensión se filtró, se lavó (2x agua, 2x TBME), se llevó a sequedad *al vacío* a 40 °C proporcionando un polvo de color blanco. Se registró una XRPD sobre este material (véase el Ejemplo 9).

Ejemplo 7

15 Preparación de una forma cristalina de 4-(8-metoxi-1-((R)-1-metoxipropan-2-il)-2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-il)-3,5-dimetilisoaxazol (forma anhidra 3)

4-(8-metoxi-1-((R)-1-metoxipropan-2-il)-2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-il)-3,5-dimetilisoaxazol hidrato (para una preparación véase el Ejemplo 6, 860 mg, 1,835 mmol) se calentó a 135 °C a 9 mbar (0,9 kPa) durante toda una noche. Se registró un XRPD sobre este material (véase el Ejemplo 9).

Ejemplo 8

20 Preparación de 4-(8-metoxi-1-((R)-1-metoxipropan-2-il)-2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-il)-3,5-dimetilisoaxazol clorhidrato (clorhidrato)

En un primer reactor una solución de ácido 7-(3,5-dimetilisoaxazol-4-il)-6-metoxi-4-(N-((R)-1-metoxipropan-2-il)tetrahidro-2H-piran-4-carboxamido)quinolina-3-carboxílico (para una preparación véase el Esquema 1, 23,3 kg) en DCM (113 kg) y DIPEA (3,8 kg) se combinó con acetonitrilo (61,6 kg) y di-*iso*-propilamina (12,8 kg) la mezcla se enfrió hasta entre -10 y -3 °C. Se añadió difenilfosforilo azida (19,0 kg) manteniendo la temperatura entre -10 y -3 °C y la reacción se agitó a esta temperatura. Se añadió difenilfosforilo azida (2,4 kg) adicionalmente manteniendo la temperatura entre -10 y -3 °C y la reacción se agitó a esta temperatura para formar una primera solución.

En un segundo reactor dimetilformamida (144 kg) y agua (72 kg) se calentó hasta 90 – 100 °C. Se añadió la primera solución manteniendo la temperatura entre 85-100 °C, el reactor 1 se enjuagó con acetonitrilo (7 kg) y el enjuague se añadió al segundo reactor manteniendo la temperatura entre 85 – 100 °C. La mezcla se agitó a esta temperatura y después se enfrió hasta 20 – 30 °C. El pH se ajustó hasta pH = 10 con solución acuosa de hidróxido sódico al 30 % en peso (10,4 kg) manteniendo la temperatura entre 20 – 30 °C. Se cargaron diclorometano (315 kg) y agua (351 kg), se separaron las fases y la fase acuosa se extrajo con diclorometano (315 kg). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con agua (234 kg). Se cargó agua (234 kg) en la fase orgánica, la mezcla se agitó, se añadió cloruro de sodio (80 kg) y se separaron las fases. Se concentró la fase orgánica a presión reducida por debajo de 30 °C, se cargó metanol (201 kg) y la solución se concentró a presión reducida por debajo de 50 °C. Se cargaron adicionalmente metanol (199 kg) y ácido clorhídrico 4M en metanol (68,5 kg) manteniendo la temperatura 20 – 30 °C y la reacción se agitó a esta temperatura. La mezcla se concentró a presión reducida por debajo de 50 °C y se cargó acetonitrilo (104 kg). La mezcla se concentró a presión reducida por debajo de 50 °C y se cargó acetonitrilo adicional (97 kg). La mezcla se concentró a presión reducida por debajo de 50 °C y se cargó acetonitrilo adicional (116 kg). La mezcla se evaporó a presión reducida por debajo de 50 °C y se cargó acetonitrilo adicional (103,0 kg). La mezcla se enfrió hasta entre -5 - 0 °C y se agitó a esta temperatura. La suspensión se centrifugó en dos partes, cada parte se lavó con acetonitrilo (9 kg) proporcionando el compuesto del título (33,40 kg, 99,3 % de pureza) en forma de una torta húmeda.

Ejemplo 9

45 Estudios de difracción de rayos x en polvo (XRPD) sobre formas cristalinas de 4-(8-metoxi-1-((R)-1-metoxipropan-2-il)-2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-il)-3,5-dimetilisoaxazol como una base libre y como una sal clorhidrato

Los datos se adquirieron sobre un difractómetro de polvo PANalytical X'Pert Pro, modelo PW3040/60 usando un detector X'Celerator. Las condiciones de adquisición fueron: radiación: Cu K α , tensión del generador: 40 kV, corriente del generador: 45 mA, ángulo de partida: 2,0° 2 θ , ángulo final: 40,0° 2 θ , tamaño de incremento: 0,0167° 2 θ , tiempo por incremento: 31,75 segundos. La muestra se preparó montando unos pocos miligramos de muestra sobre una placa de oblea de silicio (fondo cero), dando como resultado una capa fina de polvo.

Las posiciones máximas se midieron usando el software Highscore. El margen de error es aproximadamente $\pm 0,1^\circ$

2 θ para cada asignación de máximo. Las intensidades de los máximos pueden variar de muestra a muestra debido a la orientación preferida.

La Tabla 1 muestra las posiciones de máximo de XRPD características y espaciados d para la forma cristalina del compuesto 4-(8-metoxi-1-((R)-1-metoxipropan-2-il)-2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-il)-3,5-dimetilisoxazol en forma de una base libre y en forma de una sal clorhidrato.

5

Tabla 1

Forma anhidra 1 de base libre		Forma anhidra 2 de base libre		Forma anhidra 3 de base libre		Hidrato de base libre		Clorhidrato	
2 θ / °	espaciado d/Å	2 θ / °	espaciado d/Å	2 θ / °	espaciado d/Å	2 θ / °	espaciado d/Å	2 θ / °	espaciado d/Å
7,9	11,1	6,5	13,6	8,8	10,0	8,1	10,9	9,4	9,4
8,5	10,4	10,8	8,2	11,2	7,9	10,2	8,7	12,8	6,9
10,7	8,3	13,0	6,8	11,7	7,5	12,0	7,4	13,5	6,6
12,1	7,3	14,0	6,3	16,1	5,5	14,8	6,0	14,4	6,1
12,7	7,0	15,3	5,8	16,5	5,4	16,6	5,3	14,9	5,9
13,9	6,4	17,7	5,0	18,2	4,9	17,5	5,1	17,4	5,1
15,9	5,6	19,3	4,6	20,6	4,3	18,2	4,9	18,9	4,7
16,7	5,3	20,8	4,3	21,5	4,1	18,8	4,7	19,9	4,5
18,8	4,7	21,6	4,1	23,0	3,9	19,7	4,5	20,4	4,4
21,0	4,2	22,6	3,9			20,5	4,3	24,0	3,7
22,7	3,9	25,3	3,5			23,3	3,8	25,7	3,5
24,3	3,7	27,2	3,3			24,1	3,7	26,2	3,4
29,1	3,1					26,6	3,4	32,7	2,7
29,8	3,0								

Procedimientos de ensayos biológicos

Los compuestos de fórmula (I) se pueden ensayar en uno o más de los siguientes ensayos.

Ensayo de transferencia de energía por resonancia de fluorescencia resuelta en el tiempo (TR-FRET)

- 10 La unión de los compuestos de fórmula (I) a Bromodominios BRD2, BRD3 y BRD4 se determinó usando un ensayo de unión de transferencia de energía por resonancia de fluorescencia resuelta en el tiempo, que mide la unión de un péptido de histona acetilado a la proteína del bromodominio.

- 15 La proteína del bromodominio, péptido de histona y una concentración variable del compuesto de ensayo se incubaron conjuntamente para alcanzar el equilibrio termodinámico. El ensayo se configura de tal forma que en ausencia del compuesto de ensayo el bromodominio y el péptido estén significativamente unidos (~30 %) y en la presencia de una concentración suficiente de un potente inhibidor esta interacción se rompe conduciendo a una caída que se puede medir en la Transferencia de Energía por Resonancia de Fluorescencia.

Péptido de Histona:

- 20 H-Ser-Gly-Arg-Gly-Lys(Ac)-Gly-Gly-Lys(Ac)-Gly-Leu-Gly-Lys(Ac)-Gly-Gly-Ala-Lys(Ac)-Arg-His-Gly-Ser-Gly-Ser-Lys(Biotina)-OH. 3TFA

El péptido protegido se ensambló en un sintetizador de fase sólida usando resina Wang cargada previamente y usando los protocolos de síntesis Fmoc convencionales. La lisina C-terminal se protegió por un grupo hiper lábil al ácido que permite su eliminación selectiva y el final del ensamblaje y unión de la biotina. El péptido en bruto se

obtuvo después de la escisión de la resina con una mezcla de ácido trifluoroacético (TFA), triisopropilsilano y agua (95:2,5:2,5) durante 3 h a temperatura ambiente y después se purificó usando una columna de fase inversa C18 que usa un gradiente de agua/acetonitrilo tamponado con TFA al 0,1 %. Se analizaron las fracciones resultantes y las fracciones que eran > 95 % puras por HPLC analítica y que proporcionan el peso molecular correcto (por espectrometría de masas MALDI-TOF) se combinaron y se secaron por congelación. El material final se analizó por HPLC para confirmar pureza.

Producción de proteína: los Bromodominios Humanos Recombinantes (BRD2 (1-473), BRD3 (1-435) y BRD4 (1-477)) se expresaron en células de *E. coli* (en el vector pET15b) con una etiqueta de seis His en el extremo N-terminal. El Bromodominio marcado con His se extrajo de células de *E. coli* usando sonicación y se purificó usando una columna 6FF de níquel sefarosa, las proteínas se lavaron y después se eluyeron con Tris-HCl 50 mM pH 8,0. NaCl 300 mM, β -mercaptoetanol 1 mM e Imidazol 20 mM. Se realizó una purificación adicional mediante cromatografía de afinidad sobre una columna HisTRAP HP, eluyendo con un gradiente de cloruro sódico lineal 0 - 500 mM, durante 20 volúmenes de columna. La purificación final se completó mediante una columna de exclusión de tamaño de grado prep Superdex 200. La proteína purificada se almacenó a -80 °C en HEPES 20 mM pH 7,5 Y NaCl 100 mM. Se confirmó la identidad de la proteína mediante huella digital de masas del péptido y se confirmó el peso molecular predicho por espectrometría de masas.

Protocolo para los ensayos de bromodominio BRD 2, 3 y 4: todos los componentes de ensayo se disolvieron en composición tamponada de HEPES 50 mM pH 7,4, NaCl 50 mM y CHAPS 0,5mM. La concentración final de proteínas de bromodominio era 100 nM y el péptido de histona era 300 nM, estos componentes se mezclaron previamente y se dejó que se equilibraran durante 1 hora en la oscuridad. Se añadieron 8 μ l de esta mezcla de reacción a todos los pocillos que contenían 50 nl de diversas concentraciones del compuesto de ensayo o vehículo DMSO (0,5 % final) en placas de microvaloración de volumen bajo negras de 384 pocillos Greiner y se incubaron en la oscuridad durante 60 minutos a temperatura ambiente. Se añadieron 2 μ l de mezcla de detección que contenía anticuerpo anti-6his marcado con XL665 y estreptavidina marcada con criptato de europio a todos los pocillos y se realizó una incubación en la oscuridad adicional de al menos 30 minutos. Después las placas se leyeron en el lector de placas Envision, ($\lambda_{\text{exc}} = 317$ nm, donante $\lambda_{\text{EM}} = 615$ nm; aceptor $\lambda_{\text{EM}} = 665$ nm; Dicroico LANCE dual). Las mediciones de la intensidad de fluorescencia resuelta en el tiempo se realizaron a ambas longitudes de onda de emisión y se calculó la relación de aceptor/donante y se uso para análisis de datos. Todos los datos se normalizaron a la media de 16 pocillos de control alto y 16 pocillos de control bajo en cada placa. Después se aplicó un ajuste de curva de cuatro parámetros de la siguiente forma:

$$y = a + ((b - a)/(1 + (10 \wedge x/10 \wedge c) \wedge d))$$

Donde 'a' es el mínimo, 'b' es la pendiente Hill, 'c' es el valor de pCI50 y 'd' es el máximo.

Ejemplos 1 - 3 se ensayaron en todos los ensayos de BRD2, BRD3 y BRD4 descritos anteriormente y se encontró que tienen un pCI₅₀ en el intervalo 6,5 - 7.5 en cada ensayo.

35 **Medición de secreción de IL-6 secreción inducida por LPS de sangre entera**

La activación de células monocíticas por agonistas de receptores de tipo toll tales como lipopolisacárido bacteriano (LPS) da como resultado la producción de mediadores inflamatorios clave que incluyen IL-6. Tales rutas se consideran ampliamente que son centrales para la patofisiología de un intervalo de trastornos auto-inmunes e inflamatorios.

Los compuestos a ensayar se diluyen proporcionando un intervalo de concentraciones apropiadas de las que 1 μ l de las reservas diluidas se añade a una placa de 96 pocillos. Después de la adición de sangre entera (130 μ l) las placas se incuban a 37 grados (CO₂ al 5 %) durante 30 min antes de la adición de 10 μ l de 2,8 μ g/ml de LPS, diluido en RPMI 1640 completo (concentración final = 200 ng/ml), proporcionando un volumen total de 140 μ l por pocillo. Después de una incubación adicional de 24 horas a 37 grados, se añaden a cada pocillo 140 μ l de PBS. Las placas se sellan, se agitan durante 10 minutos y después se centrifugan (2500 rpm x 10 min). Se retiran 100 μ l del sobrenadante y se ensayan los niveles de IL-6 mediante inmunoensayo (normalmente por tecnología MesoScale Discovery) bien inmediatamente o bien después de almacenamiento a -20 grados. Las curvas de respuesta a concentración para cada compuesto se generaron a partir de los datos y se calculó un valor de CI₅₀

Los Ejemplos 1 y 2 se ensayaron en este ensayo y se encontró que tenían un valor de pCI50 en el intervalo de 6,0 - 7,0.

Estos datos demuestran que los inhibidores de bromodominio ensayados en el ensayo de sangre entera anterior inhibían la producción del mediador inflamatorio clave IL-6.

Modelo de ratón *in vivo* para demostrar modulación de respuesta pro-inflamatoria

5 Ratones macho CD1 (25 - 30 g, n = 4 por grupo) recibieron una única inyección en bolo i.v. de LPS (100 µg/kg) por la vena de la cola 1 h después de pretratamiento con una única administración oral bien de vehículo (1 % (p/v) de metilcelulosa en agua estéril) o bien del compuesto de ensayo (3, 10 y 30 mg/kg). Se obtuvieron muestras de sangre entera de la vena de la cola mediante la punción venosa directa en diversos momentos hasta 5 h después de la administración de LPS para análisis de IL-6 y las concentraciones del compuesto de ensayo por análisis Meso Scale Discovery (MSD) y CL-EM/EM respectivamente.

10 En ratones de control de vehículo, LPS por i.v. indujo un incremento dependiente del tiempo en concentraciones de IL-6 en suero, mientras que los ratones tratados previamente por vía oral con el compuesto del Ejemplo 2 (3, 10 y 30 mg/kg) tenían niveles máximos ($C_{m\acute{a}x}$) de IL-6 reducidos en un 46 %, 79 %, 73 % respectivamente y exposiciones totales reducidas (AUC) de IL-6 en un 35 %, 70 %, 63 % respectivamente. Esta reducción en IL-6 es comparable con la reducción máxima observada con la dexametasona de control positivo, es decir: del 73 % y 70 % de reducción en $C_{m\acute{a}x}$ y AUC de IL-6, respectivamente.

15 Estos datos demuestran que el compuesto del Ejemplo 2 ensayado en el ensayo anterior redujo los niveles de IL-6 sistémico inducidos por LPS en el ratón después de una única administración oral y por lo tanto puede ser útil como agente anti-inflamatorio.

Ensayo de crecimiento de células oncológicas

20 Líneas celulares humanas (n = 80 que comprenden las líneas celulares descritas en la Tabla 2 más adelante) se cultivaron en suero fetal bovino al 10 % que contenía RPMI-1640, 1000 células viables por pocillo se sembraron en placas de poliestireno de fondo plano de color negro de 384 pocillos (Greiner n.º: 781086) en 48 µl de medio de cultivo. Todas las placas se colocaron en CO₂ al 5 %, 37°C durante toda una noche. Al día siguiente una placa se recogió con Cell-Glo (CTG, Promega n° G7573) durante un tiempo igual a medición 0 (T0) y se añadió el compuesto (valoración puntual 20 a partir de 14,7 µM a 7 pM) a las placas remanentes. La concentración final de DMSO en todos los pocillos era 0,15 %. Se incubaron las células durante 72 horas o el tiempo indicado y cada placa se desarrolló con reactivo Cell-Glo usando un volumen equivalente al volumen de cultivo de las células en los pocillos. Las placas se agitaron durante aproximadamente 2 minutos y se leyó la señal de quimioluminiscencia sobre el Analyst GT (Molecular Devices) o Lector de Placas EnVision (Perkin Elmer).

30 Los resultados se expresan en porcentaje del T0 y se representan gráficamente frente a la concentración del compuesto. Se normalizó el valor T0 al 100 % y representa el número de células en el tiempo de la adición del compuesto y los datos de respuesta a concentración se ajustaron con un ajuste de curva de 4 parámetros usando el software Xlfit (modelo 205). La concentración que inhibía el crecimiento de las células en un 50 % (gIC_{50}) es el punto medio de la 'ventana de crecimiento' (entre el T0 y el DMSO control). El valor de $Y_{min} - T0$ se determina restando el valor T0 (100 %) del valor Y_{min} (%) determinado a partir del ajuste de la curva de respuesta a concentración. Los valores de los pocillos sin células se restaron de todas las muestras para la corrección del fondo.

35 El compuesto del Ejemplo 2 se ensayó de acuerdo con el procedimiento anterior y se encontró que tenía un valor de gIC_{50} como se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2

Tipo de línea celular	n (número de líneas)	gIC_{50}
Mieloma múltiple	16	1,1 a > 29326 nM (mediana 414 nM), con 15 fuera de 16 líneas celulares en el intervalo 1,1 a 2000 nM
Cáncer de pulmón de células pequeñas (SCLC)	38	76 a > 29326 nM (mediana 538 nM), con 35 de las 38 líneas celulares en el intervalo 76 a 2500 nM
Cáncer cervical	4	266 - 847 nM
Carcinoma de línea media - NUT	2	59 - 66 nM
Neuroblastoma	12	25 - 435 nM (mediana 193 nM)
Esofágico	8	208 - 1544 nM (mediana 759 nM)

El compuesto del Ejemplo 2 también se ensayó de acuerdo con un procedimiento análogo usando placas de 96 pocillos junto con las modificaciones apropiadas a volúmenes y concentraciones que serán evidentes para los expertos en la técnica. El compuesto del Ejemplo 2 se ensayó y se encontró que tenía un valor de gIC_{50} como se muestra en la Tabla 3.

5

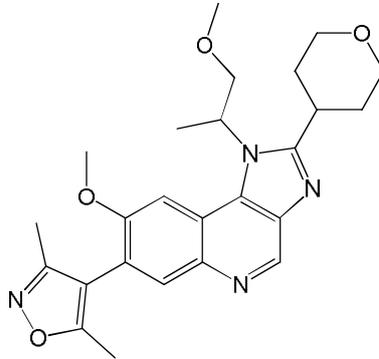
Tabla 3

Tipo de línea celular	n (número de líneas)	gIC_{50}
Leucemia monocítica aguda	1	123 nM
Leucemia promielocítica aguda	1	141 nM
Linfoma de células T cutáneas	1	162 nM
Linfoma de Burkitt	3	181 - 807 nM
Leucemia mieloide crónica	1	776 nM
Cáncer de mama (ductal)	1	537 nM
Carcinoma de ovario	1	707 nM

Estos datos demuestran que el compuesto del Ejemplo 2 ensayado en el ensayo anterior inhibía el crecimiento celular en un panel de líneas celulares oncológicas y por lo tanto tenía utilidad en el tratamiento de uno o más cánceres.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I) que es 4-(8-metoxi-1-(1-metoxipropan-2-il)-2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-il)-3,5-dimetilisoxazol

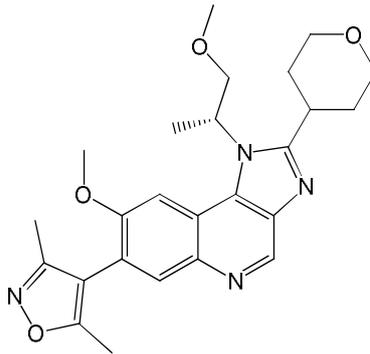


5

(I)

o una sal del mismo.

2. Un compuesto de fórmula (IA) de acuerdo con la reivindicación 1 que es 4-(8-metoxi-1-((R)-1-metoxipropan-2-il)-2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-il)-3,5-dimetilisoxazol

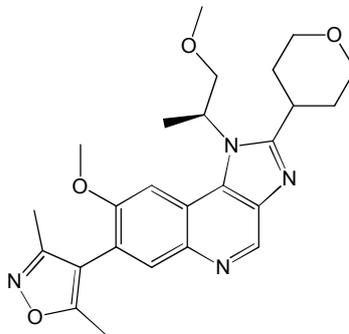


10

(IA)

o una sal del mismo.

3. Un compuesto de fórmula (IB) de acuerdo con la reivindicación 1 que es 4-(8-metoxi-1-((S)-1-metoxipropan-2-il)-2-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-il)-3,5-dimetilisoxazol



15

(IB)

o una sal del mismo.

4. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 - 3 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 4 en forma de una base libre.
6. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 4 en forma de una sal metanosulfonato.
7. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como se define en la reivindicación 4 y uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables.
8. Un producto farmacéutico de combinación que comprende un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como se define en la reivindicación 4 conjuntamente con uno o más agentes terapéuticamente activos diferentes.
9. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como se define en la reivindicación 4 para uso en terapia.
10. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como se define en la reivindicación 4 para uso en el tratamiento de una afección autoinmune y/o inflamatoria crónica.
11. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como se define en la reivindicación 4 para uso en el tratamiento de cáncer.
12. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso de acuerdo con la reivindicación 11 en el que el cáncer se selecciona de leucemia, carcinoma de línea media NUT, mieloma múltiple, neuroblastoma, linfoma de Burkitt, cáncer cervical, cáncer esofágico, cáncer ovárico, cáncer de mama y cáncer colorrectal.

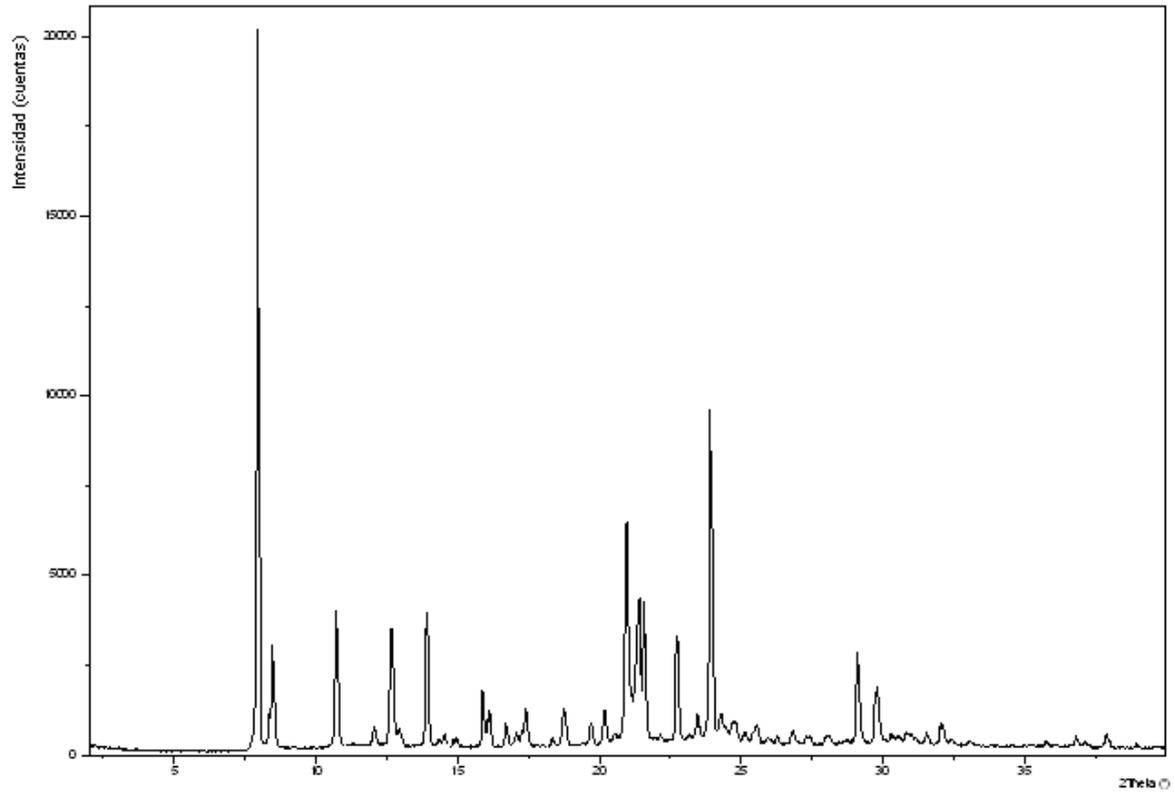


Figura 1

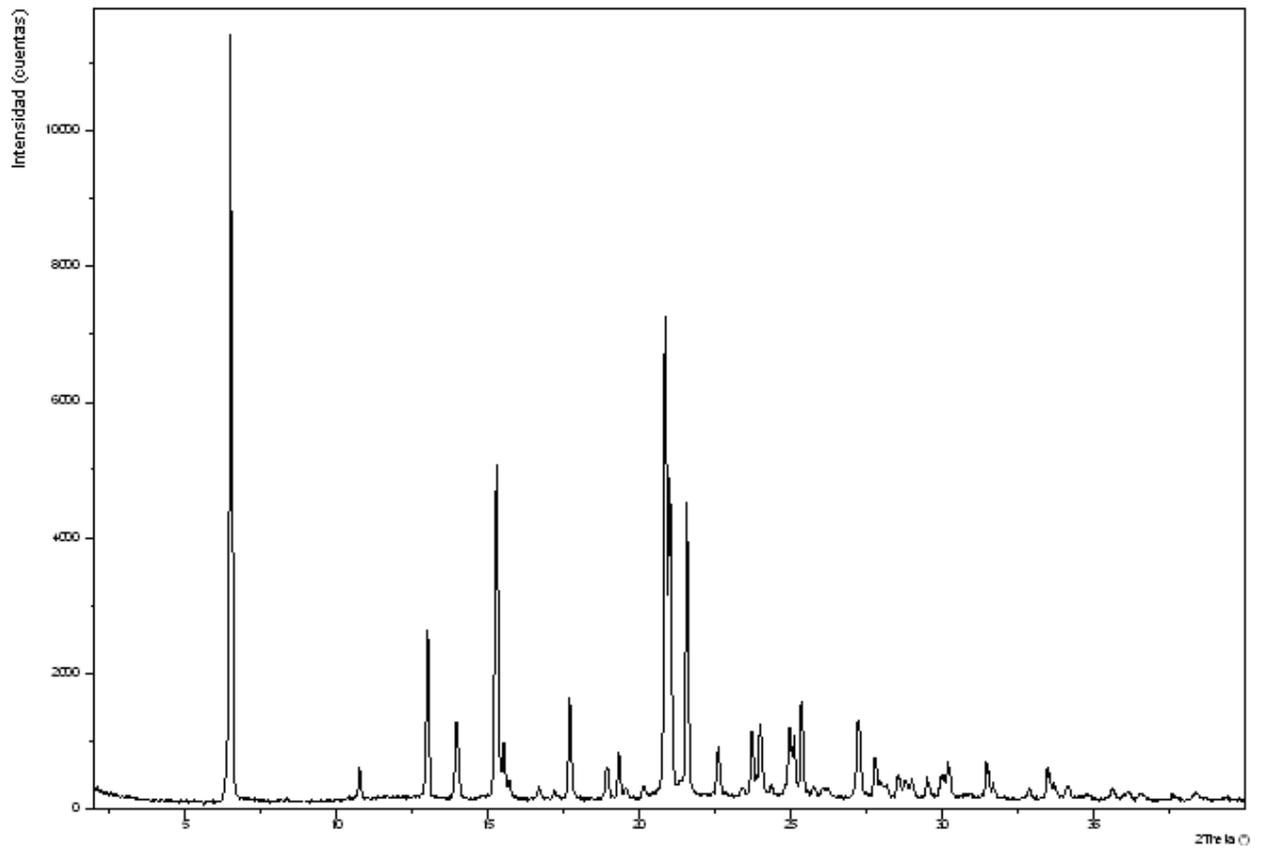


Figura 2

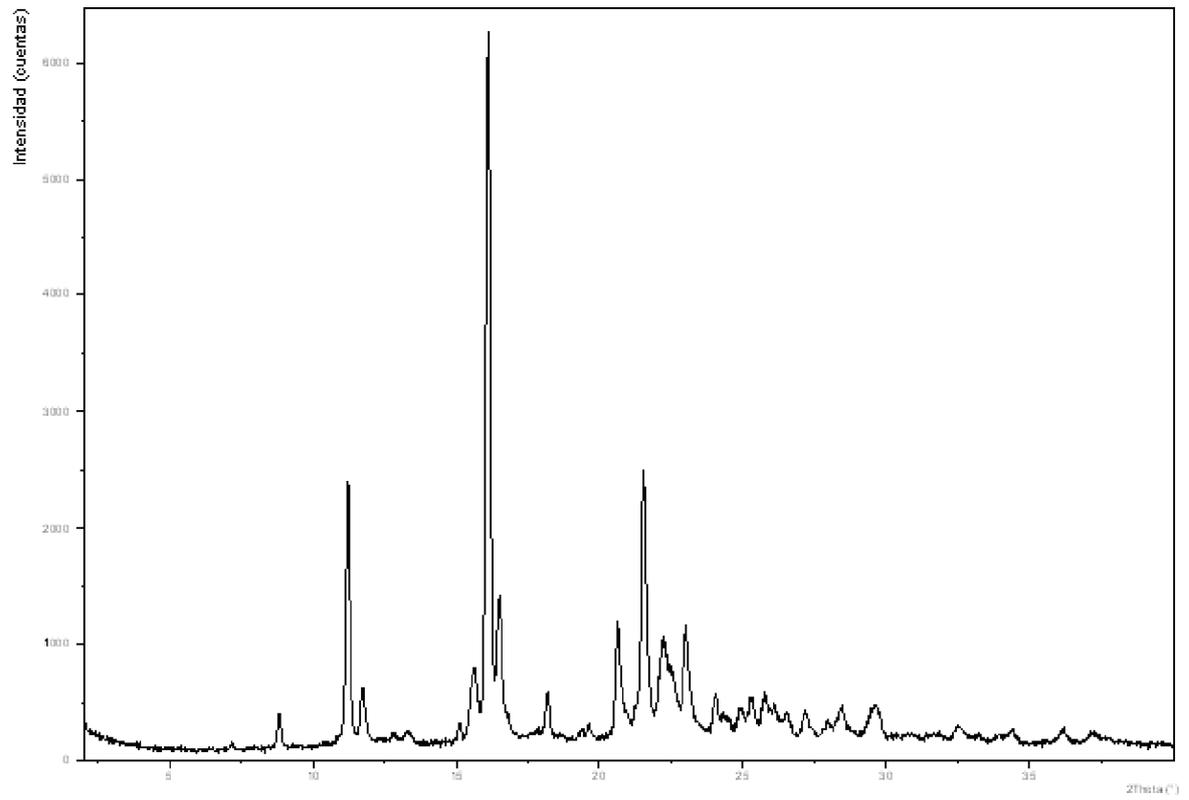


Figura 3

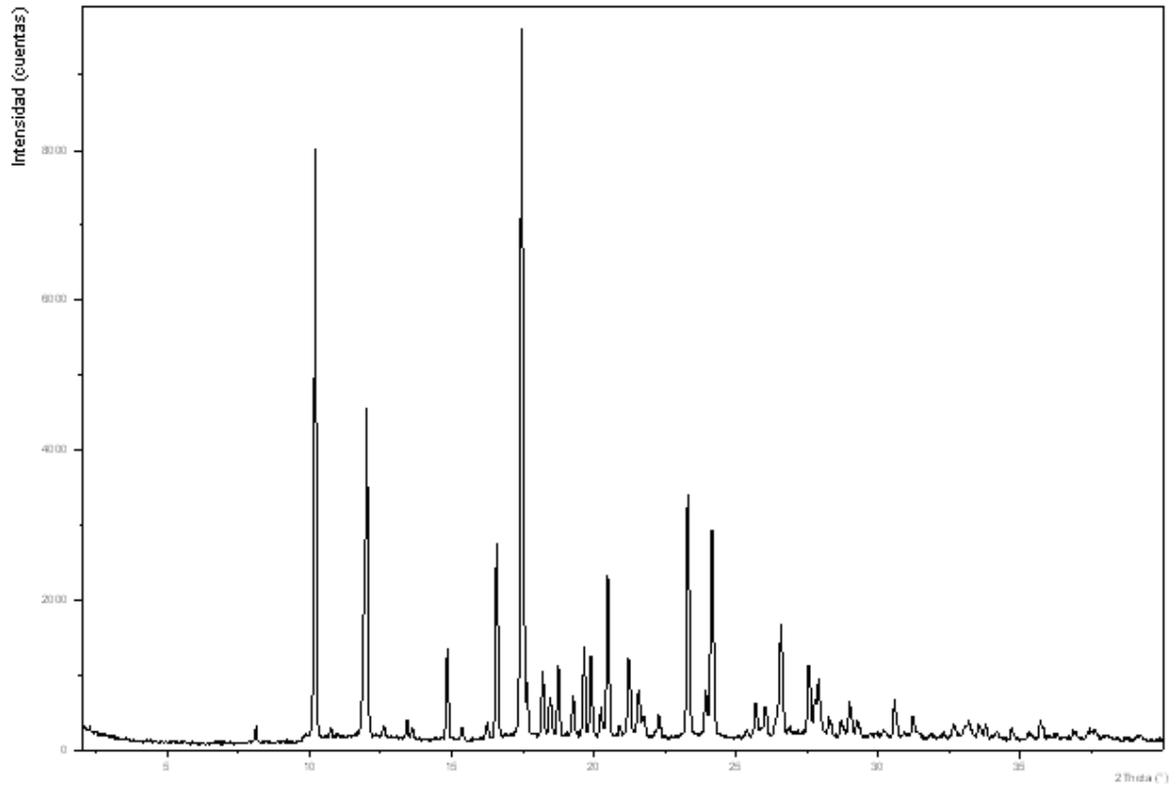


Figura 4

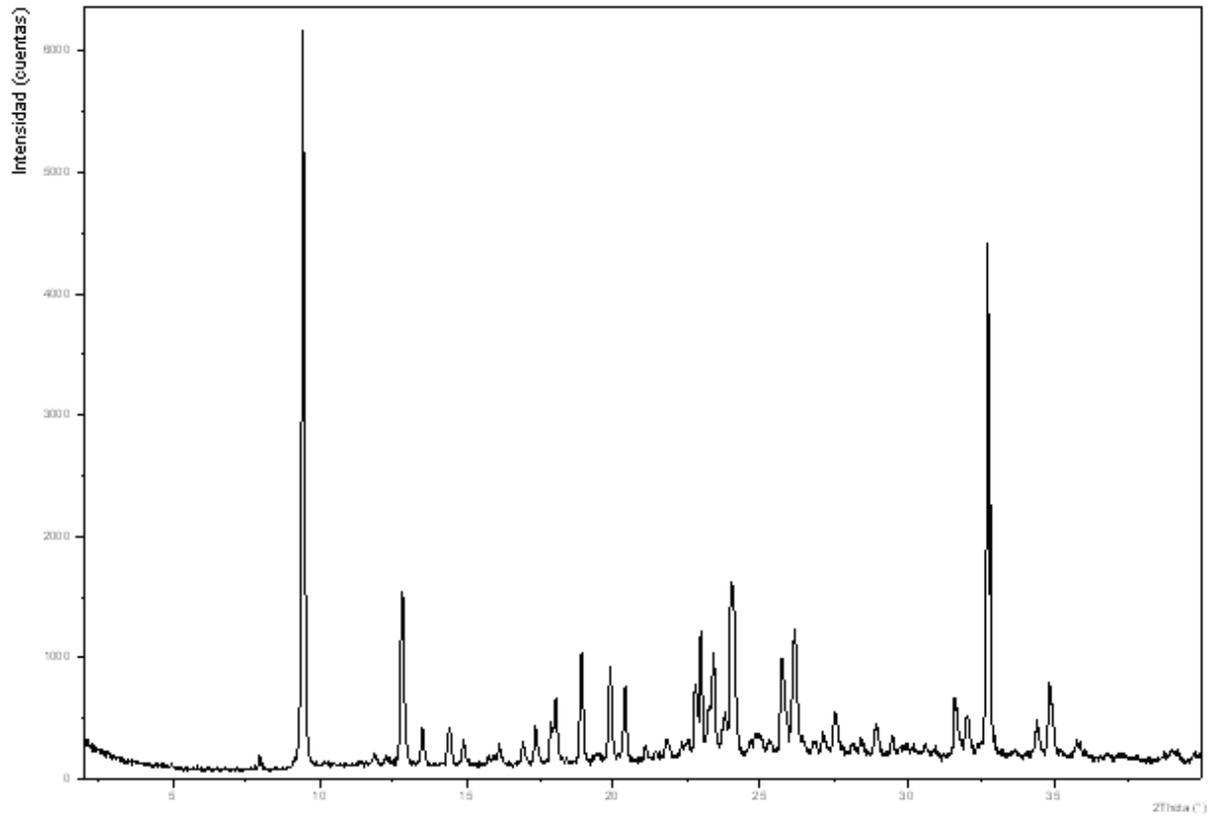


Figura 5