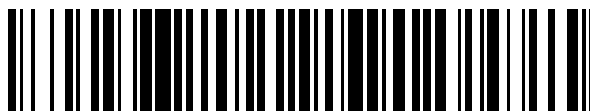


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 632 241**

51 Int. Cl.:

C07D 401/14 (2006.01)

C07D 405/14 (2006.01)

C07D 401/12 (2006.01)

C07D 471/04 (2006.01)

A61K 31/4439 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.02.2014 PCT/US2014/015706**

87 Fecha y número de publicación internacional: **14.08.2014 WO14124418**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.02.2014 E 14708987 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.04.2017 EP 2953941**

54 Título: **Moduladores de enzimas modificadoras de metilo, composiciones y usos de los mismos**

30 Prioridad:

11.02.2013 WO PCT/US2013/025639

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

12.09.2017

73 Titular/es:

**CONSTELLATION PHARMACEUTICALS, INC.
(100.0%)
215 First Street, Suite 200
Cambridge, MA 02142, US**

72 Inventor/es:

**ALBRECHT, BRIAN K.;
AUDIA, JAMES EDMUND;
COOK, ANDREW S.;
DAKIN, LES A.;
DUPLESSIS, MARTIN;
GEHLING, VICTOR S.;
HARMANGE, JEAN-CHRISTOPHE;
NASVESCHUK, CHRISTOPHER G. y
VASWANI, RISHI G.**

74 Agente/Representante:

FORTEA LAGUNA, Juan José

ES 2 632 241 T3

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

DESCRIPCIÓN

Moduladores de enzimas modificadoras de metilo, composiciones y usos de los mismos.

5 Esta solicitud reivindica la prioridad de la Solicitud Internacional N.º PCT/US2013/025639, presentada el 11 de febrero de 2013, la Solicitud Internacional N.º PCT/US2013/025639 reivindica la prioridad de las Solicitudes Provisionales de Estados Unidos n.º de serie 61/597.695, presentada el 10 de febrero de 2012, y 61/667.821, presentada el 3 de julio de 2012.

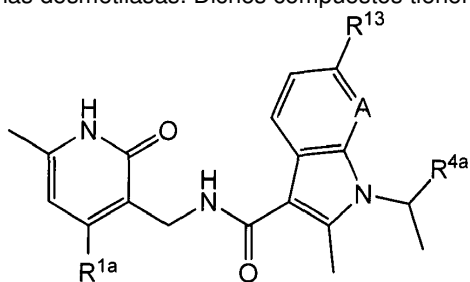
10 ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La cromatina eucariótica está compuesta por complejos macromoleculares llamados nucleosomas. Un nucleosoma tiene 147 pares de bases de ADN envueltas alrededor de un octámero proteico que tiene dos subunidades de cada una de las proteínas histonas H2A, H2B, H3 y H4. Las proteínas histonas están sujetas a modificaciones
15 postraduccionales que a su vez afectan a la estructura de la cromatina y la expresión génica. Un tipo de modificación postraducciona que se encuentra en las histonas es la metilación de residuos de lisina y arginina. La metilación de histona desempeña un papel crítico en la regulación de la expresión génica en eucariotas. La metilación afecta a la estructura de la cromatina y se ha relacionado tanto con la activación como con la represión de la transcripción (Zhang y Reinberg, Genes Dev. 15: 2343-2360, 2001). Las enzimas que catalizan la unión y la eliminación de los
20 grupos metilo de las histonas están implicadas en el silenciamiento génico, el desarrollo embrionario, la proliferación celular y otros procesos.

El documento WO 2011/140324 A1 desvela indoles que son útiles para tratar el cáncer. El documento WO 2012/118812 A2 se refiere a compuestos heteroarilo bicíclicos condensados 6,5 sustituidos, así como a composiciones farmacéuticas que contienen estos compuestos y métodos de tratamiento de cáncer mediante la
25 administración de estos compuestos y composiciones farmacéuticas a sujetos que lo necesiten. El documento US 2012/264734 A1 se refiere a compuestos benceno sustituidos con arilo o heteroarilo, así como a composiciones farmacéuticas que contienen estos compuestos y métodos de tratamiento de cáncer mediante la administración de estos compuestos y composiciones farmacéuticas a sujetos que lo necesiten.

30 RESUMEN DE LA INVENCION

La presente divulgación incluye el reconocimiento de que las enzimas modificadoras de metilo son una diana atractiva para la modulación, dado su papel en la regulación de diversos procesos biológicos. Se ha encontrado ahora que los compuestos de esta invención, y las composiciones farmacéuticamente aceptables de los mismos,
35 son eficaces como agentes que estimulan la actividad de las enzimas modificadoras de histona metilada, incluyendo las histonas metilasas y las histonas desmetilasas. Dichos compuestos tienen la fórmula general II:

**(II);**

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que cada variable es como se define en el presente documento.

40

Los compuestos de la presente invención, y composiciones farmacéuticamente aceptables de los mismos, son útiles para tratar una diversidad de enfermedades, trastornos o afecciones, que se asocian a una enzima modificadora de metilo. Dichas enfermedades, trastornos o afecciones incluyen las descritas en el presente documento.

45 Los compuestos proporcionados por esta invención son también útiles para el estudio de enzimas modificadoras de metilo en fenómenos biológicos y patológicos; el estudio de rutas de transducción de señales intracelulares mediadas por enzimas modificadoras de metilo y la evaluación comparativa de nuevos moduladores de enzimas modificadoras de metilo.

50 BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

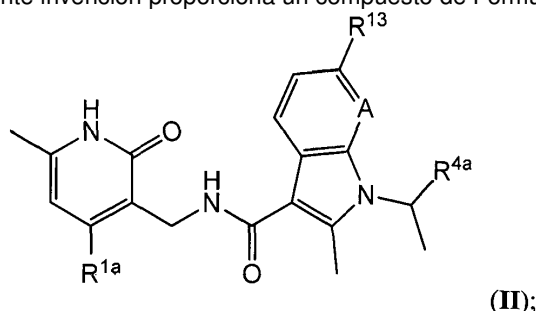
Figura 1. Compuestos ejemplares de Fórmula II.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE CIERTAS REALIZACIONES

55

1. Descripción general de compuestos de la invención

En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona un compuesto de Fórmula II:



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

A es CH o N;

R^{1a} se selecciona de entre -alquilo C₁-C₂ y -O-(alquilo C₁-C₂), en la que R^{1a} está opcionalmente sustituido con uno o más flúor;

10 R^{4a} se selecciona de entre 1-haloalquil (C₁-C₃)-piperidin-4-ilo, cicloalquilo C₃-C₆ opcionalmente sustituido con uno o más flúor, y tetrahidropiraniilo; y

R¹³ se selecciona de entre hidrógeno, halo, fenilo, piridinilo, y -O-(alquilo C₁-C₄).

2. Compuestos y definiciones

15

Las definiciones de grupos funcionales específicos y términos químicos se describen con más detalle a continuación. Para los fines de esta invención, los elementos químicos se identifican de acuerdo con la Tabla Periódica de los Elementos, versión CAS, Handbook of Chemistry and Physics, 75th Ed., cubierta interior, y se definen generalmente grupos funcionales específicos como se describe en el mismo. Además, los principios generales de la química orgánica, así como restos funcionales específicos y la reactividad, se describen en Organic Chemistry, Thomas Sorrell, University Science Books, Sausalito, 1999; Smith and March March's Advanced Organic Chemistry, 5^a Edición, John Wiley & Sons, Inc., Nueva York, 2001; Larock, Comprehensive Organic Transformations, VCH Publishers, Inc., Nueva York, 1989; Carruthers, Some Modern Methods of Organic Synthesis, 3^a Edición, Cambridge University Press, Cambridge, 1987; cuyo contenido en su totalidad de cada uno se incorpora en el presente documento por referencia.

25

A menos que se indique otra cosa, las estructuras representadas en el presente documento también pretenden incluir todas las formas isoméricas (por ejemplo, enantioméricas, diastereoméricas y geométricas (o conformacionales) de la estructura; por ejemplo, las configuraciones R y S para cada centro asimétrico, los isómeros de doble enlace Z y E, y los isómeros conformacionales Z y E. Por lo tanto, los isómeros estereoquímicos individuales así como las mezclas enantioméricas, diastereoméricas y geométricas (o conformacionales) de los presentes compuestos están dentro del alcance de la invención. A menos que se indique otra cosa, todas las formas tautómeras de los compuestos de la invención están dentro del alcance de la invención. Además, a menos que se indique otra cosa, las estructuras representadas en el presente documento también pretenden incluir compuestos que difieren solamente en presencia de uno o más átomos enriquecidos isotópicamente. Por ejemplo, los compuestos que tienen las presentes estructuras, incluyendo el reemplazo de hidrógeno por deuterio o tritio, o el reemplazo de un carbono por un carbono enriquecido con ¹³C o ¹⁴C están dentro del alcance de esta invención. Dichos compuestos son útiles, por ejemplo, como herramientas analíticas, como sondas en ensayos biológicos, o como agentes terapéuticos de acuerdo con la presente invención.

40

Cuando se prefiere un enantiómero particular, en algunas realizaciones éste puede proporcionarse sustancialmente libre del enantiómero correspondiente, y también se puede denominar como "enriquecido ópticamente". "Enriquecido ópticamente", como se usa en el presente documento, significa que el compuesto está compuesto por una proporción significativamente mayor de un enantiómero. En ciertas realizaciones, el compuesto está constituido por al menos aproximadamente el 90 % en peso de un enantiómero preferido. En otras realizaciones, el compuesto está constituido por al menos aproximadamente el 95 %, 98 %, o el 99 % en peso de un enantiómero preferido. Los enantiómeros preferidos pueden aislarse a partir de mezclas racémicas por cualquier método conocido por los expertos en la técnica, incluyendo la cromatografía líquida de alta presión quiral (HPLC) y la formación y cristalización de sales quirales o preparadas por síntesis asimétricas. Véase, por ejemplo, Jacques et al., Enantiomers, Racemates and Resolutions (Wiley Interscience, New York, 1981); Wilen, et al., Tetrahedron 33: 2725 (1977); Eliel, E.L. Stereochemistry of Carbon Compounds (McGraw-Hill, NY, 1962); Wilen, S.H. Tables of Resolving Agents and Optical Resolutions pág. 268 (E.L. Eliel, Ed., Univ. of Notre Dame Press, Notre Dame, IN 1972).

50

Un enlace ondulado (~~~~) en un centro quiral en una estructura química se usa para representar compuestos de la invención que son ópticamente puros, pero cuya rotación óptica no se ha determinado. Un enlace recto en un centro

55

quiral indica una mezcla racémica aunque, como se ha indicado anteriormente, la invención también incluye todas las formas isoméricas posibles del racemato.

Los términos "halo" y "halógeno" como se usa en el presente documento, se refieren a un átomo seleccionado entre flúor (flúor, -F), cloro (cloro, -Cl), bromo (bromo, -Br) y yodo (yodo, -I).

El término "alquileo" se refiere a un grupo alquilo bivalente. Una "cadena alquileo" es un grupo polimetileno, es decir, $-(CH_2)_n-$, en la que n es un número entero positivo, preferiblemente de 1 a 6, de 1 a 4, de 1 a 3, de 1 a 2, o de 2 a 3. Una cadena de alquileo sustituida es un grupo polimetileno en el que uno o más átomos de hidrógeno de metileno se reemplazan por un sustituyente. Los sustituyentes adecuados incluyen los descritos a continuación para un grupo alifático sustituido.

El término "alquilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un radical hidrocarburo monovalente saturado de cadena lineal o ramificada obtenido a partir de un resto alifático que contiene entre uno y seis átomos de carbono por eliminación de un único átomo de hidrógeno. En algunas realizaciones, el alquilo contiene 1-5 átomos de carbono. En otra realización, el alquilo contiene 1-4 átomos de carbono. Aún en otras realizaciones, el alquilo contiene 1-3 átomos de carbono. En otra realización más, el alquilo contiene 1-2 carbonos. Los ejemplos de radicales alquilo incluyen, pero sin limitación, metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, iso-butilo, sec-butilo, sec-pentilo, iso-pentilo, terc-butilo, n-pentilo, neopentilo, n-hexilo, sec-hexilo, y similares.

Como se describe en el presente documento, los compuestos de la invención pueden contener restos "opcionalmente sustituidos". En general, el término "sustituido", ya esté o no precedido por el término "opcionalmente", significa que uno o más hidrógenos del resto designado se reemplazan por un sustituyente adecuado. A menos que se indique otra cosa, un grupo "opcionalmente sustituido" puede tener un sustituyente adecuado en cada posición sustituible del grupo, y cuando más de una posición en cualquier estructura dada puede estar sustituida con más de un sustituyente seleccionado de un grupo especificado, el sustituyente puede ser igual o diferente en cada posición. Las combinaciones de sustituyentes previstas en esta invención son preferiblemente las que dan lugar a la formación de compuestos estables o químicamente factibles. El término "estable", como se usa en el presente documento, se refiere a compuestos que no se alteran sustancialmente cuando se someten a condiciones para permitir su producción, detección y, en ciertas realizaciones, su recuperación, purificación y uso para uno o más de los propósitos desvelados en el presente documento.

Los sustituyentes monovalentes adecuados en un átomo de carbono sustituible de un grupo "opcionalmente sustituido" son independientemente halógeno; $-(CH_2)_{0-4}R^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}OR^\circ$; $-O-(CH_2)_{0-4}C(O)OR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}CH(OR^\circ)_2$; $-(CH_2)_{0-4}SR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}Ph$, que puede estar sustituido con R° ; $-(CH_2)_{0-4}O(CH_2)_{0-1}Ph$ que puede estar sustituido con R° ; $-CH=CHPh$, que puede estar sustituido con R° ; $-NO_2$; $-CN$; $-N_3$; $-(CH_2)_{0-4}N(R^\circ)_2$; $-(CH_2)_{0-4}N(R^\circ)C(O)R^\circ$; $-N(R^\circ)C(S)R^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}N(R^\circ)C(O)NR^\circ_2$; $-N(R^\circ)C(S)NR^\circ_2$; $-(CH_2)_{0-4}N(R^\circ)C(O)OR^\circ$; $-N(R^\circ)N(R^\circ)C(O)R^\circ$; $-N(R^\circ)N(R^\circ)C(O)NR^\circ_2$; $-N(R^\circ)N(R^\circ)C(O)OR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}C(O)R^\circ$; $-C(S)R^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}C(O)SR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}C(O)OSiR^\circ_3$; $-(CH_2)_{0-4}OC(O)R^\circ$; $-OC(O)(CH_2)_{0-4}SR^\circ$; $-SC(S)SR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}SC(O)R^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}C(O)NR^\circ_2$; $-C(S)NR^\circ_2$; $-C(S)SR^\circ$; $-SC(S)SR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}OC(O)NR^\circ_2$; $-C(O)N(OR^\circ)R^\circ$; $-C(O)C(O)R^\circ$; $-C(O)CH_2C(O)R^\circ$; $-C(NOR^\circ)R^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}SSR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}S(O)_2R^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}S(O)_2OR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}OS(O)_2R^\circ$; $-S(O)_2NR^\circ_2$; $-(CH_2)_{0-4}S(O)R^\circ$; $-N(R^\circ)S(O)_2NR^\circ_2$; $-N(R^\circ)S(O)_2R^\circ$; $-N(OR^\circ)R^\circ$; $-C(NH)NR^\circ_2$; $-P(O)_2R^\circ$; $-P(O)R^\circ_2$; $-OP(O)R^\circ_2$; $-OP(O)(OR^\circ)_2$; $-SiR^\circ_3$; $-(alquileo C_{1-4} \text{ lineal o ramificado})O-N(R^\circ)_2$; o $-(alquileo C_{1-4} \text{ lineal o ramificado})C(O)O-N(R^\circ)_2$, en los que cada R° puede estar sustituido como se define a continuación y es independientemente hidrógeno, alifático C_{1-6} , $-CH_2Ph$, $-O(CH_2)_{0-1}Ph$, o un anillo de 5-6 miembros saturado, parcialmente insaturado o de arilo que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de entre nitrógeno, oxígeno, o azufre, o, a pesar de la definición anterior, dos casos independientes de R° , tomados junto con sus átomos intermedios, forman un anillo de 3-12 miembros saturado, parcialmente insaturado, o arilo mono o bicíclico que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de entre nitrógeno, oxígeno, o azufre, que pueden estar sustituidos como se define a continuación.

Los sustituyentes adecuados en un nitrógeno sustituible de un grupo "opcionalmente sustituido" incluyen $-R^\dagger$, $-NR^\dagger_2$, $-C(O)R^\dagger$, $-C(O)OR^\dagger$, $-C(O)C(O)R^\dagger$, $-C(O)CH_2C(O)R^\dagger$, $-S(O)_2R^\dagger$, $-S(O)_2NR^\dagger_2$, $-C(S)NR^\dagger_2$, $-C(NH)NR^\dagger_2$, o $-N(R^\dagger)S(O)_2R^\dagger$; en los que cada R^\dagger es independientemente hidrógeno, alifático C_{1-6} que puede estar sustituido como se define a continuación, $-OPh$ sin sustituir, o un anillo sin sustituir de 5-6 miembros saturado, parcialmente insaturado o de arilo que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de entre nitrógeno, oxígeno, o azufre, o, a pesar de la definición anterior, dos casos independientes de R^\dagger , tomados junto con sus átomos intermedios forman un anillo sin sustituir de 3-12 miembros saturado, parcialmente insaturado o arilo mono o bicíclico que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de entre nitrógeno, oxígeno o azufre.

Los sustituyentes adecuados en el grupo alifático de R^\ddagger son independientemente halógeno, $-R^\ddagger$, $-(haloR^\ddagger)$, $-OH$, $-OR^\ddagger$, $-O(haloR^\ddagger)$, $-CN$, $-C(O)OH$, $-C(O)OR^\ddagger$, $-NH_2$, $-NHR^\ddagger$, $-NR^\ddagger_2$, o $-NO_2$, en los que cada R^\ddagger está sin sustituir o cuando está precedido por "halo", está sustituido únicamente con uno o más halógenos, y es independientemente alifático C_{1-4} , $-CH_2Ph$, $-O(CH_2)_{0-1}Ph$, o un anillo de 5-6 miembros saturado, parcialmente insaturado o de arilo que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de entre nitrógeno, oxígeno, o azufre.

Como se usa en el presente documento, el término "inhibidor" se define como un compuesto que se une a y/o inhibe una S-adenosilmetionina (SAM) diana usando una enzima con afinidad medible. En ciertas realizaciones, un inhibidor tiene una CI_{50} y/o una constante de unión de menos de aproximadamente 50 μ M, menos de aproximadamente 1 μ M, menos de aproximadamente 500 nM, menos de aproximadamente 100 nM o menos de aproximadamente 10 nM.

Las expresiones "afinidad medible" e "inhibir mensurablemente", como se usan en el presente documento, se refieren a un cambio medible en la actividad de al menos una SAM usando una enzima entre una muestra que comprende un compuesto proporcionado, o una composición del mismo, y al menos una enzima dependiente de SAM, y una muestra equivalente que comprende al menos una enzima dependiente de SAM, en ausencia de dicho compuesto, o composición del mismo.

3. Descripción de compuestos ejemplares

En algunas realizaciones de Fórmula II, R^{1a} se selecciona de entre -OCH₃, -CH₃, -OCHF₂, y -CH₂CH₃.

En algunas realizaciones de Fórmula II, R^{4a} se selecciona de entre 4,4-difluorociclohexilo, ciclopropilo, tetrahidropiran-4-ilo, 1-(2-fluoroetil)-piperidin-4-ilo, 1-(2,2-difluoroetil)-piperidin-4-ilo, 1-(2,2,2-trifluoroetil)-piperidin-4-ilo.

En algunas realizaciones de Fórmula II, R^{13} se selecciona de entre hidrógeno, cloro, flúor, -OCH(CH₃)₂, fenilo y piridin-2-ilo.

Los compuestos ejemplares de Fórmula II se exponen en la figura 1. En algunos casos, dos (o más) de los compuestos de la figura 1 que tienen uno (o más) enlaces ondulados tendrán la misma estructura exacta. Debido a que el enlace ondulado representa un centro quiral de rotación óptica indeterminada, se entenderá que dichos compuestos son isómeros ópticos separados y distintos entre sí. La figura 1 se anota para indicar aquellos conjuntos de dos o más compuestos que tienen la misma estructura representada, pero son de estereoquímica diferentes.

4. Usos, formulación y administración

Composiciones farmacéuticamente aceptables

De acuerdo con otra realización, la presente invención proporciona una composición que comprende un compuesto de esta invención o un derivado farmacéuticamente aceptable del mismo y un portador, adyuvante o vehículo farmacéuticamente aceptable. La cantidad de compuesto en las composiciones de esta invención es tal que es eficaz para modular de forma medible una enzima modificadora de histona metilada, o un mutante de la misma, en una muestra biológica o en un paciente. En ciertas realizaciones, la cantidad de compuesto en las composiciones de esta invención es tal que es eficaz para modular de forma medible una enzima modificadora de histona metilada, o un mutante de la misma, en una muestra biológica o en un paciente.

En ciertas realizaciones, se formula una composición de esta invención para su administración a un paciente que necesita tal composición. En algunas realizaciones, una composición de esta invención se formula para su administración oral a un paciente.

El término "paciente", como se usa en el presente documento, se refiere a un animal, preferiblemente un mamífero, y mucho más preferiblemente un ser humano.

El término "portador, adyuvante o vehículo farmacéuticamente aceptable" se refiere a un portador, adyuvante o vehículo no tóxico que no destruye la actividad farmacológica del compuesto con el que se formula. Los portadores, adyuvantes o vehículos farmacéuticamente aceptables que pueden utilizarse en las composiciones de esta invención incluyen, pero sin limitación, intercambiadores de iones, alúmina, estearato de aluminio, lecitina, proteínas en suero, tales como albúmina sérica humana, sustancias tamponantes tales como fosfatos, glicina, ácido sórbico, sorbato de potasio, mezclas parciales de glicéridos de ácidos grasos vegetales saturados, agua, sales o electrolitos, tales como sulfato de protamina, hidrogenofosfato disódico, hidrogenofosfato potásico, sales de cinc, sílice coloidal, trisilicato de magnesio, polivinilpirrolidona, sustancias a base de celulosa, polietilenglicol, carboximetilcelulosa sódica, poliácridatos, ceras, polímeros en bloque de polietileno-polioxiopropileno, polietilenglicol y grasa de lana.

Un "derivado farmacéuticamente aceptable" se refiere a cualquier sal, éster, sal de un éster u otro derivado no tóxico de un compuesto de esta invención que, tras la administración a un receptor, es capaz de proporcionar, directa o indirectamente, un compuesto de esta invención o un metabolito o residuo inhibitoriamente activo del mismo.

Las composiciones de la presente invención pueden administrarse por vía oral, parenteral, por pulverización por inhalación, tópica, rectal, nasal, bucal, vaginal o a través de un depósito implantado. El término "parenteral" como se

usa en el presente documento, incluye técnicas de inyección o infusión subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraarticular, intrasinovial, intraesternal, intratecal, intrahepática, intralesional e intracraneal. Preferiblemente, las composiciones se administran por vía oral, intraperitoneal o intravenosa. Las formas inyectables estériles de las composiciones de esta invención pueden ser una suspensión acuosa u oleaginosa. Estas suspensiones se pueden formular de acuerdo con técnicas conocidas en la técnica usando agentes dispersantes o humectantes y agentes de suspensión adecuados. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución o una suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente no tóxico parenteralmente aceptable, por ejemplo, una solución en 1,3-butano-diol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que se pueden emplear se encuentran agua, una solución de Ringer y una solución isotónica de cloruro sódico. Además, se emplean convencionalmente aceites fijos estériles como medio disolvente o de suspensión.

Para este propósito, se puede emplear cualquier aceite fijo suave incluyendo mono o diglicéridos sintéticos. Los ácidos grasos, tales como el ácido oleico y sus derivados de glicéridos, son útiles en la preparación de inyectables, ya que son aceites farmacéuticamente aceptables naturales, tales como aceite de oliva o aceite de ricino, especialmente en sus versiones polioxiethyladas. Estas soluciones o suspensiones de aceite también pueden contener un diluyente o dispersante de alcohol de cadena larga, tal como carboximetilcelulosa o agentes dispersantes similares que se usan comúnmente en la formulación de formas de dosificación farmacéuticamente aceptables incluyendo emulsiones y suspensiones. También se puedan usar para los fines de la formulación otros tensioactivos de uso común, tales como Tweens, Spans y otros agentes emulsionantes o potenciadores de la biodisponibilidad que se usan comúnmente en la fabricación de formas farmacéuticas, sólidas, líquidas u otras formas de dosificación farmacéuticamente aceptables.

Las composiciones farmacéuticamente aceptables de esta invención se pueden administrar por vía oral en cualquier forma de dosificación aceptable por vía oral incluyendo, pero sin limitación, cápsulas, comprimidos, suspensiones o soluciones acuosas. En el caso de comprimidos para uso oral, los vehículos comúnmente utilizados incluyen lactosa y almidón de maíz. También se añaden típicamente agentes lubricantes, tales como estearato de magnesio. Para la administración oral en forma de cápsula, los diluyentes útiles incluyen lactosa y maíz desecado. Cuando se requieren suspensiones acuosas para uso oral, el principio activo se combina con agentes emulsionantes y de suspensión. Si se desea, también se pueden añadir ciertos agentes edulcorantes, saporíferos o colorantes.

Como alternativa, las composiciones farmacéuticamente aceptables de esta invención se pueden administrar en forma de supositorios para administración rectal. Éstas se pueden preparar mezclando el agente con un excipiente no irritante adecuado que es sólido a temperatura ambiente pero líquido a temperatura rectal y, por lo tanto, se fundirá en el recto para liberar el fármaco. Dichos materiales incluyen manteca de cacao, cera de abejas y polietilenglicoles.

Las composiciones farmacéuticamente aceptables de esta invención también pueden administrarse por vía tópica, especialmente cuando la diana del tratamiento incluye áreas u órganos fácilmente accesibles por aplicación tópica, incluyendo enfermedades del ojo, la piel o el tracto intestinal inferior. Las formulaciones tópicas adecuadas se preparan fácilmente para cada una de estas áreas u órganos.

La aplicación tópica para el tracto intestinal inferior puede realizarse en una formulación de supositorio rectal (véase anteriormente) o en una formulación de enema adecuada. También se pueden usar parches transdérmicos tópicos.

Para aplicaciones tópicas, las composiciones farmacéuticamente aceptables proporcionadas pueden formularse en un ungüento adecuado que contiene el componente activo suspendido o disuelto en uno o más vehículos. Los vehículos para la administración tópica de compuestos de esta invención incluyen, pero sin limitación, aceite mineral, vaselina líquida, vaselina blanca, propilenglicol, polioxietileno, compuesto de polioxipropileno, cera emulsionante y agua. Como alternativa, las composiciones farmacéuticamente aceptables proporcionadas pueden formularse en una loción o crema adecuada que contiene los componentes activos suspendidos o disueltos en uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables. Los vehículos adecuados incluyen, pero sin limitación, aceite mineral, monoestearato de sorbitán, polisorbato 60, cera de ésteres cetílicos, alcohol cetarílico, 2-octildodecanol, alcohol bencílico y agua.

Para el uso oftálmico, las composiciones farmacéuticamente aceptables proporcionadas pueden formularse como suspensiones micronizadas en solución salina estéril isotónica, con pH ajustado o, preferiblemente, como soluciones en solución salina estéril isotónica, con pH ajustado, con o sin un conservante tal como cloruro de bencalconio. Como alternativa, para usos oftálmicos, las composiciones farmacéuticamente aceptables pueden formularse en un ungüento tal como vaselina.

Las composiciones farmacéuticamente aceptables de esta invención también pueden administrarse mediante aerosol nasal o inhalación. Dichas composiciones se preparan de acuerdo con técnicas bien conocidas en la técnica de la formulación farmacéutica y pueden prepararse como soluciones en solución salina, empleando alcohol bencílico u otros conservantes adecuados, promotores de la absorción para aumentar la biodisponibilidad, fluorocarbonos y/u otros agentes solubilizantes o dispersantes convencionales.

Más preferiblemente, las composiciones farmacéuticamente aceptables de esta invención se formulan para su administración oral. Dichas formulaciones se pueden administrar con o sin alimentos. En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticamente aceptables de esta invención se administran sin alimentos. En otras realizaciones, las composiciones farmacéuticamente aceptables de esta invención se administran con alimentos.

La cantidad de compuestos de la presente invención que se puede combinar con los materiales portadores para producir una composición en una forma de dosificación individual variará dependiendo del huésped tratado y del modo particular de administración. Preferiblemente, las composiciones proporcionadas deben formularse de manera que se pueda administrar una dosificación entre 0,01 - 100 mg/kg de peso corporal/día del inhibidor a un paciente que recibe estas composiciones.

También debe entenderse que un régimen de dosificación y tratamiento específico para cualquier paciente particular dependerá de una diversidad de factores, incluyendo la actividad del compuesto específico empleado, la edad, el peso corporal, la salud general, el sexo, la dieta, el tiempo de administración, la tasa de excreción, la combinación de fármacos, y el juicio del médico tratante y la gravedad de la enfermedad particular que se está tratando. La cantidad de un compuesto de la presente invención en la composición también dependerá del compuesto particular en la composición.

20 **Usos de compuestos y composiciones farmacéuticamente aceptables**

Los compuestos y composiciones descritos en el presente documento son generalmente útiles para la modulación de la actividad de una o más enzimas implicadas en la regulación epigenética.

La epigenética es el estudio de cambios heredables en la expresión génica causados por mecanismos distintos de los cambios en la secuencia de ADN subyacente. Los mecanismos moleculares que desempeñan un papel en la regulación epigenética incluyen la metilación del ADN y modificaciones de cromatina/histona. La metilación de histona, en particular, es crítica en muchos fenómenos epigenéticos.

La cromatina, el ensamblaje organizado de ADN nuclear y proteínas de histona, es la base para una multitud de procesos nucleares vitales que incluyen la regulación de la transcripción, la replicación, la reparación del daño del ADN y la progresión a través del ciclo celular. Se han identificado una serie de factores, tales como las enzimas modificadoras de la cromatina, que desempeñan un papel importante en el mantenimiento del equilibrio dinámico de la cromatina (Margueron, et al. (2005) Curr. Opin. Genet. Dev. 15: 163-176).

Las histonas son los principales componentes proteicos de la cromatina. Estas actúan como carretes alrededor de los cuales se enrolla el ADN y desempeñan un rol en la regulación genética. Existe un total de seis clases de histonas (H1, H2A, H2B, H3, H4 y H5) organizadas en dos superclases: las histonas nucleosomales (H2A, H2B, H3 y H4) y las histonas de enlace (H1 y H5). La unidad básica de la cromatina es el nucleosoma, que consiste en aproximadamente 147 pares de base de ADN enrollado alrededor del octámero de histonas, que consiste en dos copias de cada histona nucleosomal H2A, H2B, H3 y H4 (Luger, et al. (1997) Nature 389: 251-260).

Las histonas, particularmente los residuos de los extremos amino de las histonas H3 y H4 y los extremos amino y carboxilo de las histonas H2A, H2B y H1, son susceptibles a una serie de modificaciones postraduccionales que incluyen la acetilación, la metilación, la fosforilación, la ribosilación, la sumoilación, la ubiquitinación, la citrulinación, la deisminación y la biotilación. El núcleo de las histonas H2A y H3 también puede modificarse. Las modificaciones a histonas son integrales en diversos procesos biológicos tales como la regulación genética, la reparación de ADN y la condensación cromosómica.

La presente divulgación proporciona compuestos y composiciones para la actividad de modulación de enzimas modificadoras de histonas metiladas. Las enzimas modificadoras de histona metilada son reguladores claves de los procesos celulares y de desarrollo. Las enzimas modificadoras de histona metilada pueden caracterizarse como histona metiltransferasa o histona-desmetilasas. Las enzimas histona desmetilasa tienen módulos que median la unión a los residuos metilados. Por ejemplo, múltiples desmetilasas contienen un dominio Tudor (por ejemplo, JMJD2C/GASC1) o un dominio PHD (por ejemplo, JARID1C/SMCX, PHF8).

Se han caracterizado las especificidades de lisina de muchas histona metiltransferasas. Por ejemplo SET7/9, SMYD3, y MLL1-5 son específicas para H3K4, SUV39H1, DIM-5, y G9a son específicas para H3K9, SET8 es específica para H4K20.

DOL1 es un ejemplo de un dominio no SET que contiene histonas metilasa. DOLT1 metila H3 en la lisina 79.

Del mismo modo que se ha demostrado que las histonas metilas regulan la actividad transcripcional, la estructura de la cromatina y el silenciamiento génico, también se han descubierto desmetilasas que afectan a la expresión génica. LSD1 fue la primera histona lisina desmetilasa en caracterizarse. Esta enzima muestra homología con las aminas

oxidasas dependientes de FAD y actúa como un co-represor transcripcional de genes neuronales (Shi et al., Cell 119:941-953, 2004). Se han descubierto desmetilasas adicionales que definen familias desmetilasa separadas, incluyendo las familias JHDM1 (o KDM2), JHDM2 (o KDM3), JMJD2 (o KDM4), JARID (o KDM5), JMJD3 (o KDM6), y JMJD6 (Lan et al., Curr. Opin. Cell Biol. 20(3): 316-325, 2008).

5

Las desmetilasas actúan sobre residuos de lisina específicos dentro de secuencias de sustrato y discriminan entre el grado de metilación presente en un residuo dado. Por ejemplo, LSD1 elimina los grupos mono o dimetilo de H3K4. Los miembros de la familia JARID1A-D eliminan grupos trimetilo de H3K4. UTX y JMJD3 desmetilan H3K27, neutralizando los efectos de la actividad de la metilasa EZH2. Se han caracterizado las especificidades de sustrato

10

de otras desmetilasas (véase Shi, Nat. Rev. 8: 829-833, 2007).

Una clase de histonas metilasas se caracteriza por la presencia de un dominio SET, llamado así por proteínas que comparten el dominio, Su(var)3-9, potenciador de zeste [E(Z)] y trithorax. Un dominio SET incluye aproximadamente 130 aminoácidos. Las familias de metilasa que contienen un dominio SET incluyen las familias SUV39H1, SET1,

15

SET2, EZH2, RIZ1, SMYD3, SUV4-20H1, SET7/9, y PR-SET7/SET8 (revisadas en Dillon et al., Genome Biol. 6: 227, 2005). Los miembros de una familia típicamente incluyen motivos de secuencia similares en la proximidad de y dentro del dominio SET. El genoma humano codifica más de 50 histonas proteínas metilasas que contienen un dominio SET, cualquiera de las cuales puede usarse en un ensayo descrito en el presente documento

20 EZH2 es un ejemplo de una metilasa que contiene un dominio SET humano. EZH2 se asocia con EED (desarrollo de ectodermo embrionario) y SUZ12 (supresor del homólogo zeste 12) para formar un complejo conocido como PRC2 (complejo represivo 2 del grupo Polycomb) que tiene la capacidad de trimetilar la histona H3 en la lisina 27 (Cao y Zhang, Mol. Cell 15: 57-67, 2004). Los complejos PRC2 también pueden incluir las subunidades RBAP46 y RBAP48.

25 Las actividades oncogénicas de EZH2 se han demostrado por varios estudios. En experimentos con líneas celulares, la sobreexpresión de EZH2 induce la invasión celular, el crecimiento en agar, y la motilidad mientras que la atenuación de EZH2 inhibe la proliferación celular y la invasión celular (Kleer et al., 2003, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 100: 11606-11611; Varambally et al., (2002), "The polycomb group protein EZH2 is involved in progression of prostate cancer", Nature 419, 624-629). Se ha demostrado que EZH2 reprime la expresión de varios supresores tumorales, incluyendo E-cadherina, DAB2IP y RUNX3 entre otros. En los modelos de xenoinjerto, la atenuación de EZH2 inhibe el crecimiento tumoral y la metástasis. Recientemente, se ha demostrado que la modulación descendente de EZH2 en los modelos murinos bloquea la metástasis del cáncer de próstata (Min et al., "An oncogene-tumor suppressor cascade drives metastatic prostate cancer by coordinately activating Ras and nuclear factor- κ B", Nat Med. 2010 Mar; 16(3): 286-94). EZH2 overexpression is associated with aggressiveness of

35

certains cancers such as breast cancer (Kleer et al., Proc. Nat. Acad. Sci. USA 100: 11606-11611, 2003). Estudios recientes también sugieren que el gen de fusión oncogénico específico de cáncer de próstata TMPRSS2-ERG induce programas epigenéticos represivos a través de la activación directa de EZH2 (Yu et al., "An Integrated Network of Androgen Receptor, Polycomb, and TMPRSS2-ERG Gene Fusions in Prostate Cancer Progression", Cancer Cell. 2010 May 18; 17(5): 443-454).

40

En algunas realizaciones, los compuestos de la presente invención modulan la actividad de una o más enzimas implicadas en la regulación epigenética. En algunas realizaciones, los compuestos de la presente invención modulan la actividad de una enzima modificadora de histona metilada, o un mutante de la misma. En algunas realizaciones, los compuestos de la presente invención modulan la actividad de EZH2. En algunas realizaciones, los compuestos de la presente invención reducen o suprimen la actividad de EZH2. En algunas realizaciones, los compuestos de la presente invención son antagonistas de la actividad de EZH2.

45

En algunas realizaciones, los compuestos y composiciones de la presente invención son útiles en el tratamiento de enfermedades y/o trastornos asociados con una enzima modificadora de la histona metilada. Por consiguiente, en

50

algunas realizaciones, la presente invención proporciona un método para modular una enfermedad y/o trastorno asociado con una enzima modificadora de la histona metilada. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un método para tratar un sujeto que padece una enfermedad y/o trastorno asociado con una enzima modificadora de histona metilada que comprende la etapa de administrar un compuesto o composición de Fórmula II.

55

En algunas realizaciones, los compuestos y composiciones de la presente invención son útiles en el tratamiento de enfermedades y/o trastornos asociados con la sobreexpresión de EZH2. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un método para tratar un sujeto que padece una enfermedad y/o trastorno asociado con la sobreexpresión de EZH2 que comprende la etapa de administrar un compuesto o composición de Fórmula II. En

60

algunas realizaciones, el método anterior comprende adicionalmente la etapa preliminar de determinar si el sujeto está sobreexpresando EZH2.

En algunas realizaciones, los compuestos y composiciones de la presente invención son útiles en el tratamiento de enfermedades y/o trastornos asociados con la proliferación celular. En algunas realizaciones, los compuestos y

65

composiciones de la presente invención son útiles en el tratamiento de enfermedades y/o trastornos asociados con

la regulación errónea del ciclo celular o la reparación del ADN. En algunas realizaciones, los compuestos y composiciones de la presente invención son útiles en el tratamiento del cáncer. Los tipos ejemplares de cáncer incluyen cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer de colon, carcinoma de células renales, cáncer de glioblastoma multiforme, cáncer de vejiga, melanoma, cáncer bronquial, linfoma y cáncer de hígado.

5

El estudio de deleciones de EZH2, mutaciones sin sentido y con desplazamiento del marco de lectura sugieren que EZH2 funciona como un supresor tumoral en los trastornos sanguíneos tales como síndromes mielodisplásicos (MDS) y neoplasias mieloides (Ernst et al., Nat Genet. 2010 Aug; 42(8): 722-6; Nikoloski et al., Nat Genet. 2010 Aug; 42(8): 665-7). Por consiguiente, en algunas realizaciones, los compuestos y composiciones de la presente invención son útiles en el tratamiento de enfermedades y/o trastornos asociados con la presencia de una forma mutante de EZH2. En algunas realizaciones, los compuestos y composiciones de la presente invención son útiles en el tratamiento de enfermedades y/o trastornos asociados con la presencia de Y641N EZH2. En alguna realización, la enfermedad o trastorno asociado con la presencia de una forma mutante de EZH2 es un linfoma de linfocitos B humanos. En algunas realizaciones, la enfermedad y/o trastorno asociado con la presencia de Y641N EZH2 es linfoma folicular o linfoma difuso de linfocitos B grandes. En algunas realizaciones, los compuestos o composiciones de la presente invención son útiles en el tratamiento de trastornos sanguíneos, tales como síndromes mielodisplásicos, leucemia, anemia y citopenia. Sneeringer et al., "Coordinated activities of wild-type plus mutant EZH2 drive tumor-associated hypertrimethylation of lysine 27 on histone H3 (H3K27) in human B-cell lymphomas", Proceedings of the National Academy of Sciences, PNAS Edición anterior publicada antes de la impresión el 15 de noviembre de 2010.

En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un método para reducir la actividad de EZH2 en un sujeto que comprende la etapa de administrar un compuesto o composición de Fórmula II. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un método para reducir la actividad de EZH2 de tipo silvestre en un sujeto que comprende la etapa de administrar un compuesto o composición de Fórmula II. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un método para reducir la actividad de una forma mutante de EZH2 en un sujeto que comprende la etapa de administrar un compuesto o composición de Fórmula II. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un método para reducir la actividad de una forma mutante de EZH2 en un sujeto que comprende la etapa de administrar un compuesto o composición de Fórmula II, en la que la forma mutante de EZH2 es Y641N EZH2. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un método para tratar un sujeto que padece una enfermedad y/o trastorno asociado con EZH2 que comprende la etapa de administrar un compuesto o composición de Fórmula II. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un método para tratar un sujeto que padece una enfermedad y/o trastorno asociado con EZH2 de tipo silvestre que comprende la etapa de administrar un compuesto o composición de Fórmula II. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un método para tratar un sujeto que padece una enfermedad y/o trastorno asociado con una forma mutante de EZH2 que comprende la etapa de administrar un compuesto o composición de Fórmula II. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un método para tratar un sujeto que padece una enfermedad y/o trastorno asociado con una forma mutante de EZH2 que comprende la etapa de administrar un compuesto o composición de Fórmula II, en la que la forma mutante de EZH2 es Y641N EZH2. En algunas realizaciones, el método anterior comprende adicionalmente la etapa preliminar de determinar si el sujeto está expresando una forma mutante de EZH2, tal como Y641N EZH2. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un método para reducir la actividad de una forma mutante de EZH2, tal como Y641N EZH2, en un sujeto que lo necesite que comprende la etapa de administrar un compuesto o composición de Fórmula II. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un método para tratar un sujeto que padece una enfermedad y/o trastorno asociado con una forma mutante de EZH2 que comprende la etapa de administrar un compuesto o composición de Fórmula II. En algunas realizaciones, el método anterior comprende adicionalmente la etapa preliminar de determinar si el sujeto está expresando una forma mutante de EZH2, tal como Y641N EZH2. En algunas realizaciones, esta determinación se realiza determinando si el sujeto tiene niveles aumentados de trimetilación específica de histona H3 Lys-27 (H3K27me3), en comparación con un sujeto que se sabe que no expresa una forma mutante de EZH2.

50

EQUIVALENTES

Los ejemplos representativos a continuación están destinados a ayudar a ilustrar la invención, y no pretenden ni deben ser interpretados como limitantes del alcance de la invención. De hecho, diversas modificaciones de la invención y muchas realizaciones adicionales de la misma, además de las mostradas y descritas en el presente documento, resultarán evidentes para los expertos en la técnica a partir del contenido completo de este documento, incluyendo los ejemplos a continuación y las referencias a las publicaciones científicas y bibliografía de patentes citada en el presente documento.

Se apreciará que para las preparaciones de compuestos descritas en el presente documento, cuando se usa HPLC de fase inversa para purificar un compuesto, puede existir un compuesto como una sal de adición de ácidos. En algunas realizaciones, un compuesto puede existir como ácido fórmico o sal de ácido mono, di o tri-trifluoroacético.

Se apreciará además que la presente invención contempla compuestos individuales descritos en el presente documento. Cuando los compuestos individuales ilustrados se aíslan y/o se caracterizan como una sal, por ejemplo,

65

como una sal de ácido trifluoroacético, la presente invención contempla una base libre de la sal, así como otras sales farmacéuticamente aceptables de la base libre.

Los siguientes ejemplos contienen información, ilustración y orientación adicional importante que se puede adaptar a la práctica de esta invención en sus diversas realizaciones y equivalentes de las mismas.

Los procedimientos para preparar los compuestos ilustrados a continuación, así como los compuestos/intermedios adicionales en los esquemas sintéticos se pueden encontrar en la Solicitud Internacional N.º PCT/US2013/025639, cuyo contenido se incorpora en el presente documento por referencia.

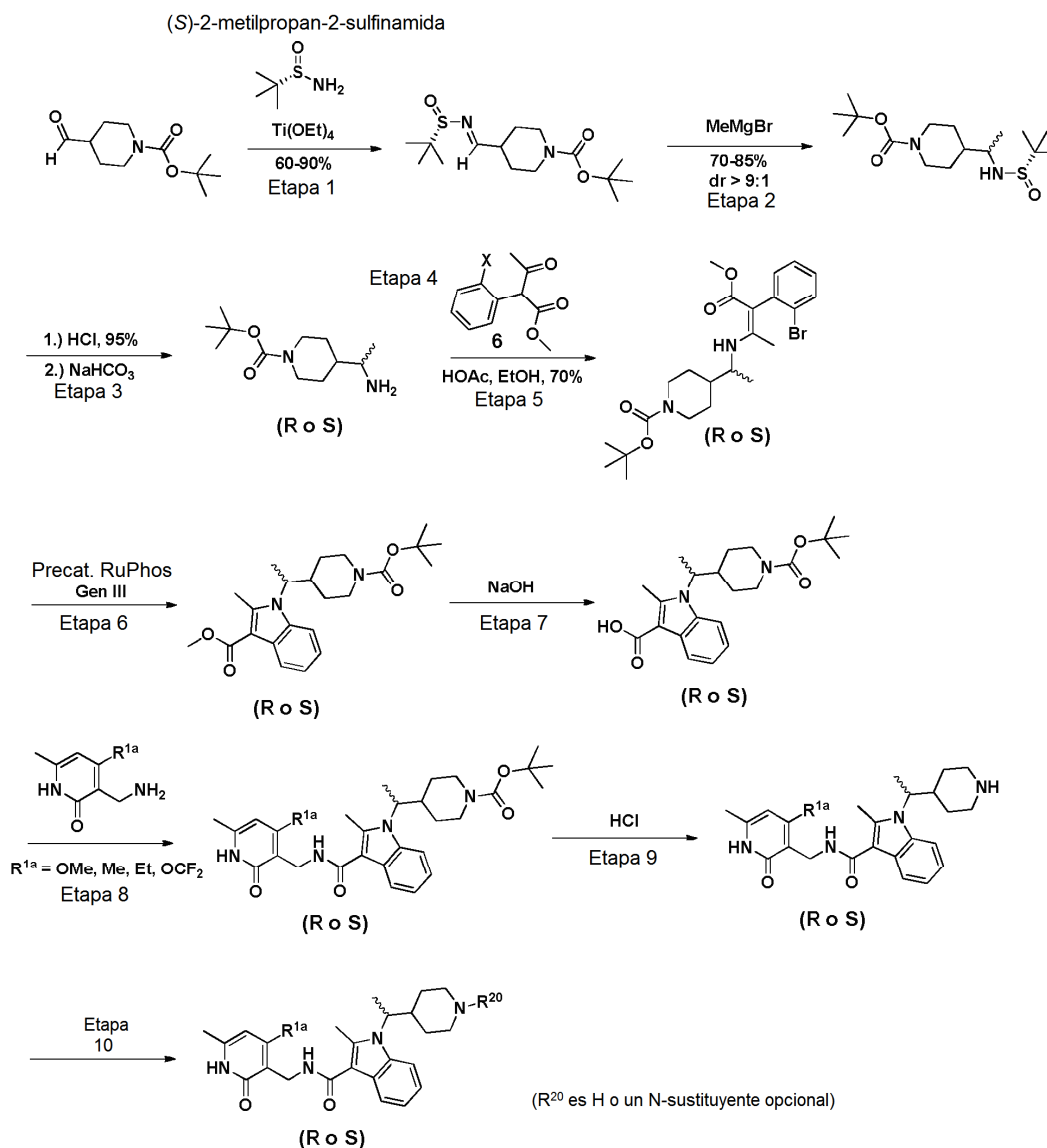
10

Ejemplos

Como se representa en los Ejemplos a continuación, en ciertas realizaciones ejemplares, los compuestos se preparan de acuerdo con los siguientes procedimientos generales. Se apreciará que, aunque los métodos sintéticos y los Esquemas representan la síntesis de ciertos compuestos de la presente invención, los siguientes métodos y otros métodos conocidos por un experto en la técnica se pueden aplicar a todos los compuestos y subclases y especies de cada uno de estos compuestos, como se describe en el presente documento.

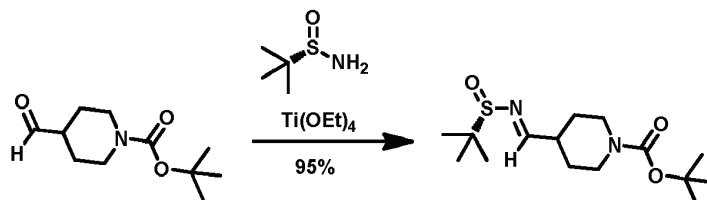
A menos que se indique otra cosa, todos los disolventes, productos químicos y reactivos se obtuvieron comercialmente y se usaron sin purificación. Los espectros de ^1H RMN se obtuvieron en CDCl_3 , d_6 -DMSO, CD_3OD , o d_6 -acetona a 25 °C a 300 MHz en un OXFORD (Varian) con un desplazamiento químico (δ , ppm) notificado con respecto a TMS como un patrón interno. Los cromatogramas y espectros de HPLC-MS se obtuvieron con un sistema Shimadzu LC-MS-2020. El análisis quiral y la purificación se obtuvieron con Yilite P270

25 Ejemplo 1. Síntesis de los compuestos 327 y 346 y compuestos e intermedios relacionados. Los compuestos del título de este Ejemplo y otros compuestos relacionados se prepararon de acuerdo con el siguiente esquema general. Además, cuando se indica, se desvelan modificaciones de este esquema para la síntesis de aún compuestos relacionados adicionales de la invención e intermedios de los mismos.



Etapa 1: 4-(((*tert*-butilsulfinil)imino)metil)piperidin-1-carboxilato de (*S,E*)-*tert*-butilo:

(S)-2-metilpropan-2-sulfinamida

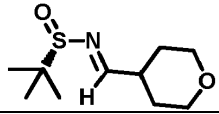


5

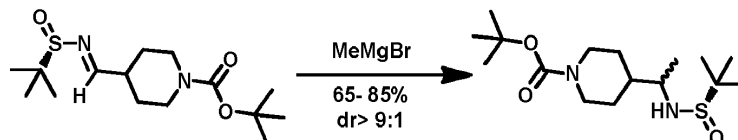
En un matraz de fondo redondo cargado con una barra de agitación magnética se añadieron (S)-2-metilpropano-2-sulfinamida (20,46 g, 169 mmol), 4-formilpiperidin-1-carboxilato de *tert*-butilo (30 g, 141 mmol), DCM (300 ml), y Ti(OEt)₄ (59,0 ml, 281 mmol). La solución se agitó a temperatura ambiente durante 3 h antes de inactivarse con salmuera (80 ml). La solución se agitó durante 30 minutos antes de la filtración. La torta de filtro se lavó con DCM y el filtrado se puso en un embudo de decantación y se lavó con agua. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró al vacío. El residuo en bruto solidificó para dar el compuesto del título (29 g, 92 mmol, rendimiento del 65,1 %) m/z 217,

El intermedio mostrado en la siguiente tabla se preparó de acuerdo con el procedimiento general descrito en la Etapa 1 usando los materiales de partida y modificaciones apropiadas.

Nombre	Estructura	m/z
--------	------------	-----

(S,E)-2-metil-N-((tetrahidro-2H-piran-4-il)metileno)propano-2-sulfinamida		
---	---	--

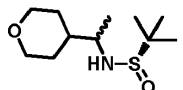
Etapa 2: 4-((S)-1-((R o S)-1,1-dimetiletilsulfinamido)etil) piperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo:



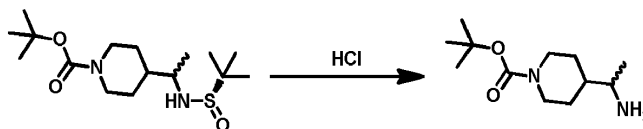
- 5 En un matraz de fondo redondo cargado con una barra de agitación magnética se añadió 4-((*terc*-butilsulfinilimino)metil)piperidin-1-carboxilato de (*S,E*)-*terc*-butilo (36,4 g, 115 mmol), DCM (400 ml), y la solución se enfrió a 0 °C en un baño de hielo con agitación. A esta solución se le añadió MeMgBr (77 ml, 230 mmol) (3 M en éter dietílico) y la reacción se agitó durante 4 h mientras se calentaba a temperatura ambiente. La reacción se interrumpió cuidadosamente mediante la adición de NH₄Cl acuoso saturado. El sólido se descompuso mediante la
- 10 adición de HCl 1 N. Las capas se separaron y la fase acuosa se extrajo con DCM. La fase orgánica combinada se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró al vacío para proporcionar el compuesto del título (29 g, >9:1 dr) que se usó sin purificación adicional en la siguiente etapa.

El intermedio mostrado en la siguiente tabla se preparó de acuerdo con el procedimiento general descrito en la

15 Etapa 2 usando los materiales de partida y modificaciones apropiadas.

Nombre	Estructura	m/z
(S)-2-metil-N-((R o S)-1-(tetrahidro-2H-piran-4-il)etil)propano-2-sulfinamida		234

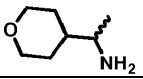
Etapa 3: 4-(1-Aminoetil)piperidin-1-carboxilato de (*R o S*)-*terc*-butilo:



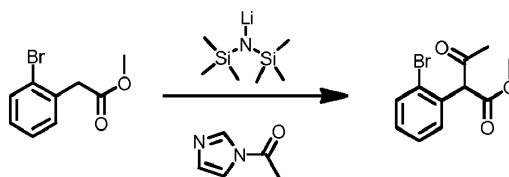
- 20 En un matraz de fondo redondo de 1 l cargado con una barra de agitación magnética se añadió 4-((*S*)-1-((*S*)-1,1-dimetiletilsulfinamido)etil)piperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo en bruto (29 g) y se recogió en MeOH (200 ml) antes de la adición de una solución 4 N de HCl en 1,4-dioxano (24,06 ml, 96 mmol). Después, la solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 h a ta. Después, el metanol se eliminó al vacío para proporcionar un aceite
- 25 viscoso que se trató con NaHCO₃ acuoso sat. (~500 ml) y se extrajo con acetato de etilo (2 x 500 ml). Esta fase orgánica se combinó, se secó con MgSO₄, se filtró, y el disolvente se eliminó entonces al vacío proporcionando el compuesto del título (22 g) que se usó sin purificación adicional.

El intermedio mostrado en la siguiente tabla se preparó de acuerdo con el procedimiento general descrito en la

30 Etapa 3 usando los materiales de partida apropiados.

Nombre	Estructura	m/z
(R o S)-1-(tetrahidro-2H-piran-4-il)etanamina		130

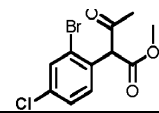
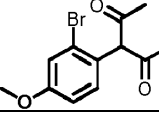
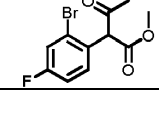
Etapa 4: 2-(2-Bromofenil)-3-oxobutanoato de metilo:



- 35 Un matraz de fondo redondo se cargó con una barra de agitación magnética y 2-(2-bromofenil)acetato de metilo (25 g, 109 mmol) y THF (50 ml). Esta solución se enfrió a -78 °C antes de la adición gota a gota de una solución 1 M

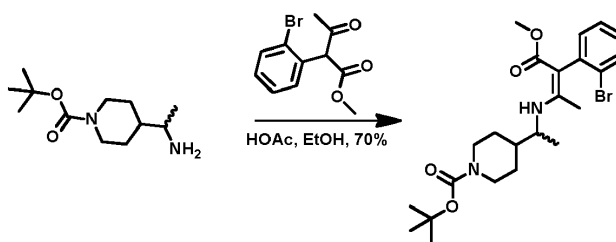
de LiHMDS en THF (218 ml, 218 mmol). La reacción se agitó durante 30 min a -78 °C antes de la adición de 1-(1H-imidazol-1-il)etanona (14,42 g, 131 mmol) disuelta en una mezcla de THF:DMF (112 ml de THF, 24 ml de DMF). La solución se agitó durante 1 h antes de inactivarse con NH₄Cl acuoso saturado (-250 ml) y dilución con EtOAc. Las capas se separaron y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (~2 x 250 ml). El extracto orgánico combinado se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró al vacío. El residuo en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice usando un eluyente de acetato de etilo/hexanos (10:1) para proporcionar 2-(2-bromofenil)-3-oxobutanoato de metilo (32,5 g, 102 mmol, rendimiento del 93 %).

Los intermedios mostrados en la siguiente tabla se prepararon de acuerdo con el procedimiento general descrito en la Etapa 4 usando los materiales de partida apropiados.

Nombre	Estructura	m/z
2-(2-bromo-4-clorofenil)-3-oxobutanoato de metilo		304
2-(2-bromo-4-metoxifenil)-3-oxobutanoato de metilo		302
2-(2-bromo-4-fluorofenil)-3-oxobutanoato de metilo		289

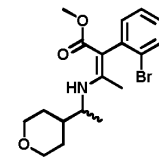
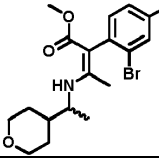
Etapa 5: 4-(1-(3-(2-Bromofenil)-4-metoxi-4-oxobut-2-en-2-ilamino)etil)piperidin-1-carboxilato de (R o S, E y Z)-terc-butilo:

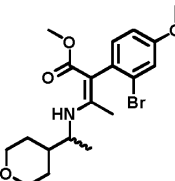
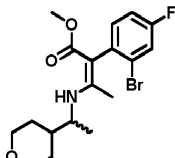
15



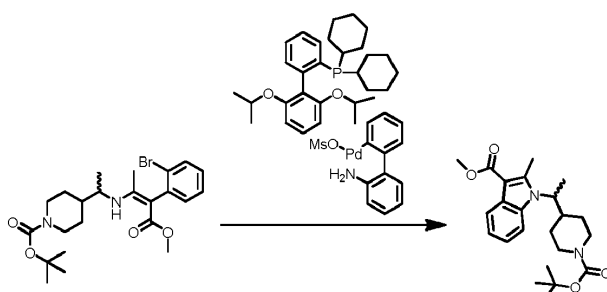
En un matraz de fondo redondo se añadieron 4-(1-aminoetil)piperidin-1-carboxilato de (R o S)-terc-butilo (9,35 g, 40,9 mmol), EtOH (75 ml), y 2-(2-bromofenil)-3-oxobutanoato de metilo (7,40 g, 27,3 mmol) (de la Etapa 4). A esta solución se le añadió AcOH (1,563 ml, 27,3 mmol) y la reacción se calentó durante una noche a 85 °C antes de enfriarse a temperatura ambiente y concentrarse. El residuo en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (330 g, hexanos al 100 % con respecto a AE al 25 % en hexanos) para proporcionar el compuesto del título (6,45 g, 13,40 mmol, rendimiento del 49,1 %).

Los intermedios mostrados en la siguiente tabla se prepararon de acuerdo con el procedimiento general descrito en la Etapa 5 usando los materiales de partida apropiados.

Nombre	Estructura	m/z
2-(2-bromofenil)-3-((1-(tetrahydro-2H-piran-4-il)etil)amino)but-2-enoato de (R o S,Z)-metilo		383
2-(2-bromo-4-clorofenil)-3-((1-(tetrahydro-2H-piran-4-il)etil)amino)but-2-enoato de (R o S,Z)-metilo		417

2-(2-bromo-4-clorofenil)-3-((1-(tetrahydro-2H-piran-4-il)etil)amino)but-2-enoato de (R o S,Z)-metilo		417
2-(2-bromo-4-fluorofenil)-3-((1-(tetrahydro-2H-piran-4-il)etil)amino)but-2-enoato de (R o S,Z)-metilo		401

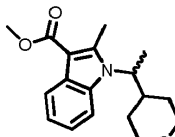
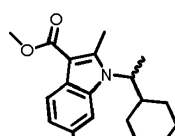
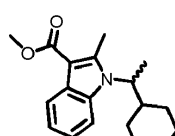
Etapas 6: 1-(1-(1-(terc-Butoxicarbonil)piperidin-4-il)etil)-2-metil-1H-indolo-3-carboxilato de (R o S)-metilo:

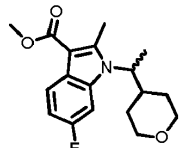


- 5 Un matraz de fondo redondo de 250 ml se cargó con una barra de agitación magnética, 4-(1-(3-(2-bromofenil)-4-metoxi-4-oxobut-2-en-2-ilamino)etil)piperidin-1-carboxilato de (R o S,Z)-terc-butilo (3,33 g, 6,92 mmol), precatalizador II RuPhos (Metanosulfonato(2-diciclohexilfosfino-2',6'-di-i-propoxi-1,1'-bifenil)(2-amino-1,1'-bifenil-2-il) paladio (II)) (0,463 g, 0,553 mmol), diciclohexil(2',6'-diisopropoxibifenil-2-il)fosfina (0,387 g, 0,830 mmol), 1,4-dioxano anhidro (27,7 ml, 6,92 mmol), y metóxido sódico (0,561 g, 10,38 mmol). La mezcla de reacción se purgó, se rellenoó con nitrógeno y se calentó a 100 °C con agitación durante una noche antes de dejarse enfriar a ta. La reacción se diluyó con acetato de etilo (~100 ml) y la mezcla se filtró a través de un lecho de tierra de diatomeas. El filtrado se preabsorbió sobre gel de sílice (~30 g) y se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (120 g) usando acetato de etilo/hexanos (1:1) como eluyente para proporcionar el compuesto del título (2,01 g, 4,77 mmol, rendimiento del 68,9 %).

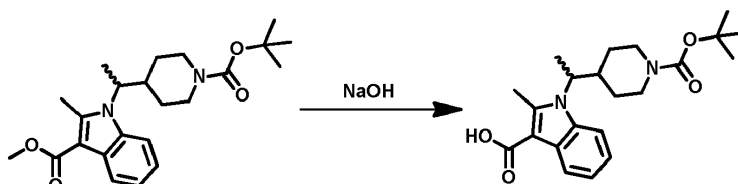
15

Los intermedios mostrados en la siguiente tabla se prepararon de acuerdo con el procedimiento general descrito en la Etapa 6 usando los materiales de partida apropiados.

Nombre	Estructura	m/z
2-metil-1-(1-(tetrahydro-2H-piran-4-il)etil)-1H-indolo-3-carboxilato de (R o S)-metilo		302
6-cloro-2-metil-1-(1-(tetrahydro-2H-piran-4-il)etil)-1H-indolo-3-carboxilato de (R o S)-metilo		337
6-metoxi-2-metil-1-(1-(tetrahydro-2H-piran-4-il)etil)-1H-indolo-3-carboxilato de (R o S)-metilo		332

6-fluoro-2-metil-1-(1-(tetrahydro-2H-piran-4-il)etil)-1H-indolo-3-carboxilato de (R o S)-metilo		320
---	---	-----

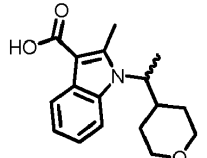
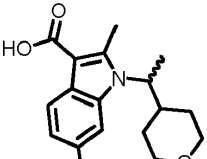
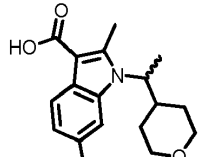
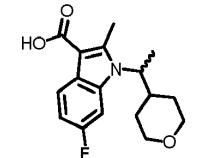
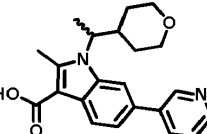
Etapa 7: Ácido (R o S)-2-metil-1-(1-(tetrahydro-2H-piran-4-il)etil)-1H-indolo-3-carboxílico:



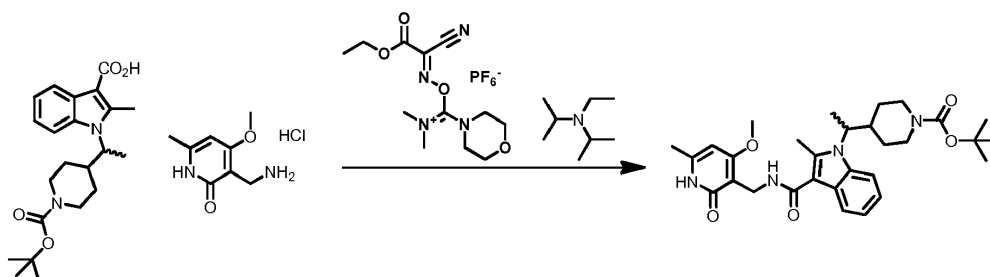
- 5 Un matraz de fondo redondo de 1 l se cargó con una barra de agitación magnética, 2-metil-1-(1-(tetrahydro-2H-piran-4-il)etil)-1H-indolo-3-carboxilato de (R o S)-metilo (11,60 g, 38,5 mmol), etanol (96 ml, 38,5 mmol), y NaOH acuoso 6 N (64,1 ml, 385 mmol). El matraz se equipó con un condensador de reflujo y se calentó a reflujo durante 6 h antes de dejarse enfriar a ta. Los volátiles se retiraron al vacío y la mezcla resultante se vertió en HCl al 10 % (~300 ml). Se formó un precipitado que se recogió a través de filtración al vacío en un embudo Buchner. La torta de filtro se aclaró con una porción más de agua (-200 ml), se recogió y se secó al vacío para proporcionar el compuesto del título (10,87 g, 35,9 mmol, rendimiento del 93 %) en forma de un sólido de color blanquecino.

Los intermedios mostrados en la siguiente tabla se prepararon de acuerdo con el procedimiento general descrito en la Etapa 7 usando los materiales de partida apropiados.

15

Nombre	Estructura	m/z
Ácido (R o S)-2-metil-1-(1-(tetrahydro-2H-piran-4-il)etil)-1H-indolo-3-carboxílico		287
Ácido (R o S)-6-cloro-2-metil-1-(1-(tetrahydro-2H-piran-4-il)etil)-1H-indolo-3-carboxílico		321
Ácido (R o S)-6-metoxi-2-metil-1-(1-(tetrahydro-2H-piran-4-il)etil)-1H-indolo-3-carboxílico		317
Ácido (R o S)-6-fluoro-2-metil-1-(1-(tetrahydro-2H-piran-4-il)etil)-1H-indolo-3-carboxílico		306
Ácido (R o S)-2-metil-6-(piridin-3-il)-1-(1-(tetrahydro-2H-piran-4-il)etil)-1H-indolo-3-carboxílico		365

Etap 8: 4-(1-(3-((4-Metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metilcarbamoil)-2-metil-1H-indol-1-il)etil)piperidin-1-carboxilato de (R o S)-*terc*-butilo (Compuesto 327).



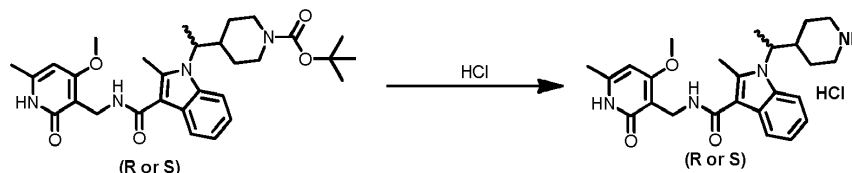
- 5 Un matraz de fondo redondo de 250 ml se cargó con una barra de agitación magnética, ácido (R o S)-1-(1-(1-(*terc*-butoxicarbonil)piperidin-4-il)etil)-2-metil-1H-indolo-3-carboxílico (1,950 g, 5,05 mmol), clorhidrato de 3-(aminometil)-4-metoxi-6-metilpiridin-2(1H)-ona (2,065 g, 10,09 mmol), DMF (25,2 ml, 5,05 mmol), base de Hunig (3,52 ml, 20,18 mmol). La mezcla de reacción se enfrió a 0 °C y se añadió COMU (2,16 g, 5,05 mmol). La reacción se dejó en agitación durante una noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se diluyó con agua y se extrajo con
- 10 EtOAc. El extracto orgánico combinado se lavó con salmuera, se secó con MgSO₄, se filtró y se concentró al vacío para proporcionar el material en bruto que se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (120 g) usando MeOH/acetato de etilo (1:5) como eluyente para proporcionar el compuesto del título (1,86 g, 3,29 mmol, rendimiento del 65,3 %). LCMS 537 (M+1)⁺ ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 11,83 - 11,71 (m, 1 H), 7,80 (s a, 1 H), 7,73 (d, J = 7,6 Hz, 1 H), 7,62 (d, J = 7,8 Hz, 1 H), 7,06 (td, J = 7,1, 14,4 Hz, 2 H), 6,21 (s, 1 H), 4,32 (s a, 2 H), 4,16 (s a, 1 H),
- 15 4,02 (s a, 1 H), 3,85 (s, 3 H), 3,75 (s a, 1 H), 2,70 (s a, 1 H), 2,58 (s, 3 H), 2,37 (s a, 1 H), 2,21 (s, 3 H), 1,90 (d, J = 12,9 Hz, 1 H), 1,53 (d, J = 6,9 Hz, 3 H), 1,35 (s, 10 H), 1,21 (s a, 1 H), 0,89 (d, J = 8,7 Hz, 1 H), 0,67 (d, J = 11,8 Hz, 1 H).

Los compuestos mostrados en la siguiente tabla se prepararon de acuerdo con el procedimiento general descrito en la Etapa 8 usando los materiales de partida apropiados. Las estructuras de los compuestos se muestran en la figura 1.

Compuesto Número	Nombre	¹ H RMN	m/z
435	4-(1-(3-(((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)carbamoil)-2-metil-1H-indol-1-il)etil)piperidin-1-carboxilato de (R o S)- <i>terc</i> -butilo		521
436	4-(1-(3-(((4-(difluorometoxi)-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)carbamoil)-2-metil-1H-indol-1-il)etil)piperidin-1-carboxilato de (R o S)- <i>terc</i> -butilo		573
437	4-(1-(3-(((4-etil-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)carbamoil)-2-metil-1H-indol-1-il)etil)piperidin-1-carboxilato de (R o S)- <i>terc</i> -butilo		535
298	(R o S)-N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1-(1-(tetrahydro-2H-piran-4-il)etil)-1H-indolo-3-carboxamida	(400 MHz, DMSO-d ₆) δ 11,60 (s, 1H), 7,73-7,62 (m, 3H), 7,60 (d, 2H) 7,07-7,05 (m, 2H), 6,15 (s, 1H) 4,33 (s, 1H), 4,21-4,11 (m, 1H), 3,92 (d a, 1H), 3,65 (d, 1H), 3,34-3,32 (m, 1H), 3,02 (t, 1H), 2,61 (s, 3H), 2,48-2,44 (m, 1H), 2,20 (s, 3H), 1,84-1,81 (m, 1H), 1,54 (d, 3H), 1,40-1,38 (m, 12H), 1,25-1,22 (m, 1H), 1,08-1,04 (m, 1H), 0,86 (s a, 1H), 0,58 (d a, 1H)	438
300	(R o S)-6-fluoro-N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1-(1-(tetrahydro-2H-piran-4-il)etil)-1H-indolo-3-carboxamida	(400 MHz, DMSO-d ₆) δ = 11,57 (s a, 1 H), 7,75 - 7,67 (m, 2 H), 7,48 (d, J = 10,7 Hz, 1 H), 6,90 (t, J = 8,5 Hz, 1 H), 6,13 (s, 1 H), 4,29 (d, J = 4,5 Hz, 2 H), 4,12 (s a, 1 H), 3,94 - 3,87 (m, 1 H), 3,83 (s, 3 H), 3,64 (dd, J = 3,6, 10,9 Hz, 1 H), 3,35 (s a, 1 H), 3,05 (s a, 1 H), 2,56 (s, 3 H), 2,45-2,37 (m, 1 H), 2,18 (s, 3 H), 1,81 (d, J = 12,7 Hz, 1 H), 1,50 (d, J = 6,9 Hz, 3 H), 1,40 - 1,29 (m, 1 H), 1,11 - 0,99 (m, 1 H), 0,61 (s a, 1 H)	456

314	(R o S)-6-cloro-N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1-(1-(tetrahidro-2H-piran-4-il)etil)-1H-indolo-3-carboxamida	(400 MHz, DMSO-d ₆) δ 11,57 (s, 1 H), 7,75 (s, 2 H), 7,66 (d, J = 8,9 Hz, 1 H), 7,08 (d, J = 8,5 Hz, 1 H), 6,14 (s, 1 H), 4,30 (d, J = 4,5 Hz, 2 H), 4,21 - 4,05 (m, 2 H), 3,91 (d, J = 11,4 Hz, 1 H), 3,85 (s, 3 H), 3,65 (d, J = 10,5 Hz, 1 H), 3,02 (t, J = 11,3 Hz, 1 H), 2,58 (s, 3 H), 2,46 - 2,31 (m, 1 H), 2,19 (s, 3 H), 1,82 (d, J = 12,0 Hz, 1 H), 1,59 - 1,45 (m, 4 H), 1,44 - 1,29 (m, 1 H), 0,57 (d, J = 12,9 Hz, 1 H)	472
321	(R o S)-6-metoxi-N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1-(1-(tetrahidro-2H-piran-4-il)etil)-1H-indolo-3-carboxamida	(400 MHz, DMSO-d ₆) δ = 11,59 (s, 1 H), 7,67 - 7,59 (m, 2 H), 7,03 (s, 1 H), 6,75 - 6,68 (m, 1 H), 6,14 (s, 1 H), 4,30 (d, J = 5,1 Hz, 2 H), 4,10 (dd, J = 7,5, 10,4 Hz, 1 H), 3,91 (dd, J = 3,0, 11,3 Hz, 1 H), 3,83 (s, 3 H), 3,80 - 3,76 (m, 3 H), 3,68 - 3,60 (m, 1 H), 3,38 - 3,32 (m, 1 H), 3,10 - 3,00 (m, 1 H), 2,56 (s, 3 H), 2,19 (s, 3 H), 1,83 (d, J = 12,7 Hz, 1 H), 1,55 - 1,43 (m, 4 H), 1,34 (s a, 1 H), 1,10 - 0,96 (m, 1 H), 0,62 (d, J = 13,4 Hz, 1 H)	468
335	(R o S)-N-((4-(difluorometoxi)-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1-(1-(tetrahidro-2H-piran-4-il)etil)-1H-indolo-3-carboxamida		474
394	(R o S)-N-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1-(1-(tetrahidro-2H-piran-4-il)etil)-1H-indolo-3-carboxamida		422
442	(R o S)-6-cloro-N-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1-(1-(tetrahidro-2H-piran-4-il)etil)-1H-indolo-3-carboxamida		456

Etapas 9: Clorhidrato de (R o S)-N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1-(1-(piperidin-4-il)etil)-1H-indolo-3-carboxamida (Compuesto 326).



5

Un matraz de fondo redondo de 250 ml se cargó con una barra de agitación magnética, 4-(1-(3-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)carbamoil)-2-metil-1H-indol-1-il)etil)piperidin-1-carboxilato de (R o S)-*terc*-butilo (Compuesto 327) (1,850 g, 3,45 mmol), MeOH (13,79 ml, 3,45 mmol), y HCl (2,59 ml, 10,34 mmol) (4 N en dioxano). La reacción se dejó en agitación a ta durante 6 h antes de concentrarse al vacío para proporcionar el compuesto del

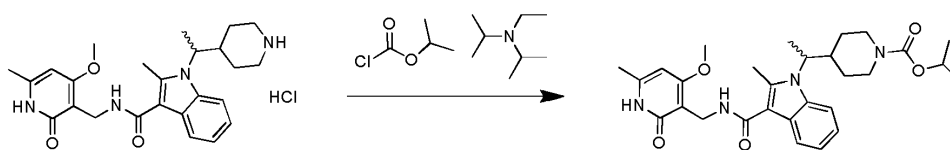
10 título (1,65 g, 3,14 mmol, rendimiento del 91 %). LCMS 437 (M+1)⁺.

El compuesto mostrado en la siguiente tabla se preparó de acuerdo con el procedimiento general descrito en la Etapa 9 usando los materiales de partida apropiados. La estructura de este compuesto se muestra en la figura 1.

Compuesto Número	Nombre	¹ H RMN	m/z
376	Clorhidrato de (R o S)-1-(1-(1-(azetidín-3-il)piperidin-4-il)etil)-N-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1H-indolo-3-carboxamida	(400 MHz, DMSO-d ₆) δ 12,27 - 12,10 (m, 1 H), 11,96 - 11,72 (m, 1 H), 9,80 (s a, 1 H), 9,19 (s a, 2 H), 7,89 - 7,67 (m, 2 H), 7,62 (d, J = 7,6 Hz, 1 H), 7,09 (quin, J = 6,6 Hz, 2 H), 5,99 (s, 1 H), 4,59 - 4,36 (m, 3 H), 4,24 - 3,95 (m, 2 H), 3,48 (d, J = 13,2 Hz, 1 H), 3,17 (d, J = 12,0 Hz, 1 H), 2,87 (s a, 1 H), 2,70 (s a, 2 H), 2,58 (s, 3 H), 2,34 - 2,25 (m, 3 H), 2,19 - 2,10 (m, 3 H), 1,75 (d, J = 12,3 Hz, 1 H), 1,57 (d, J = 6,7 Hz, 3 H), 1,47 (d, J = 12,7 Hz, 2 H), 1,33 - 1,21 (m, 2 H), 0,85 (d, J = 13,6 Hz, 1 H)	476

15

Etapas 10: 4-(1-(3-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)carbamoil)-2-metil-1H-indol-1-il)etil)piperidin-1-carboxilato de (R o S)-isopropilo (Compuesto 346).



Un matraz de fondo redondo de 250 ml se cargó con una barra de agitación magnética, clorhidrato de (R o S)-N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1-(1-(1-(piperidin-4-il)etil)-1H-indolo-3-carboxamida (0,467 g, 0,987 mmol), DMF (2,468 ml, 0,987 mmol), THF (2,468 ml, 0,987 mmol), y N-etil-N-isopropilpropan-2-amina (0,638 g, 4,94 mmol). La reacción se enfrió a 0 °C y se añadió gota a gota carbonocloridato de isopropilo (0,160 ml, 1,086 mmol) mediante una jeringa. La reacción se dejó en agitación durante 2 h a ta y después se trató con LiOH 5 N durante 1 h para retirar cualquiera piridona acilada. Este material se extrajo con acetato de etilo, se lavó con salmuera, se secó con MgSO₄, se filtró y se concentró al vacío. El material resultante se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (50 g) usando acetato de etilo/MeOH (5:1) como eluyente para proporcionar el compuesto del título puro en forma de un sólido de color amarillo pálido (0,300 g, 0,545 mmol, rendimiento del 55,2 %). LCMS 523 (M+1)⁺; ¹H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 11,59 (s, 1 H), 7,74 (d, J = 7,8 Hz, 1 H), 7,69 (t, J = 4,9 Hz, 1 H), 7,62 (d, J = 7,8 Hz, 1 H), 7,13 - 7,01 (m, 2 H), 6,15 (s, 1 H), 4,78 - 4,67 (m, 1 H), 4,32 (d, J = 4,9 Hz, 2 H), 4,23 - 4,12 (m, 1 H), 4,12 - 4,02 (m, 1 H), 3,84 (s, 3 H), 3,82 - 3,74 (m, 1 H), 2,79 - 2,66 (m, 1 H), 2,58 (s, 3 H), 2,46 - 2,34 (m, 2 H), 2,20 (s, 3 H), 1,96 - 1,88 (m, 1 H), 1,58 - 1,46 (m, 4 H), 1,15 (d, J = 6,0 Hz, 6 H), 0,95 - 0,89 (m, 1 H), 0,74 - 0,65 (m, 1 H).

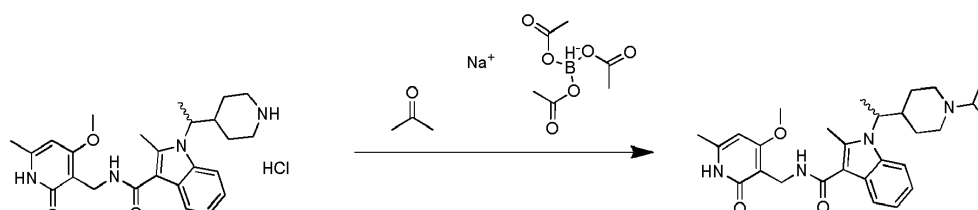
Los compuestos mostrados en la siguiente tabla se prepararon de acuerdo con el procedimiento general descrito en la Etapa 10 usando los materiales de partida apropiados. Las estructuras de los compuestos se muestran en la figura 1.

20

Compuesto Número	Nombre	¹ H RMN	m/z
336	(R o S)-N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1-(1-(1-(metilsulfonil)piperidin-4-il)etil)-1H-indolo-3-carboxamida	(400 MHz, DMSO-d ₆) δ = 11,59 (s, 1 H), 7,78 - 7,66 (m, 2 H), 7,64 - 7,57 (m, 1 H), 7,06 (s, 2 H), 6,14 (s, 1 H), 4,31 (d, J = 4,9 Hz, 2 H), 4,25 - 4,15 (m, 1 H), 3,83 (s, 3 H), 3,63 (s, 1 H), 3,40 - 3,33 (m, 1 H), 2,79 (s, 3 H), 2,75 - 2,65 (m, 1 H), 2,60 (s, 3 H), 2,45 - 2,27 (m, 1 H), 2,19 (s, 3 H), 2,06 - 1,98 (m, 1 H), 1,55 (d, J = 6,9 Hz, 3 H), 1,45 - 1,36 (m, 1 H), 1,28 - 1,18 (m, 1 H), 1,14 - 1,03 (m, 1 H), 0,83 - 0,74 (m, 1 H)	515
337	(R o S)-1-(1-(1-(2-hidroxi-2-metilpropanoil)piperidin-4-il)etil)-N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1H-indolo-3-carboxamida	(400 MHz, DMSO-d ₆) δ = 11,58 (s, 1 H), 7,77 - 7,67 (m, 2 H), 7,66 - 7,60 (m, 1 H), 7,06 (s, 2 H), 6,14 (s, 1 H), 5,32 - 5,23 (m, 1 H), 4,31 (d, J = 4,5 Hz, 2 H), 4,19 - 4,10 (m, 1 H), 3,83 (s, 3 H), 2,75 - 2,62 (m, 2 H), 2,58 (s, 3 H), 2,19 (s, 4 H), 2,00 - 1,90 (m, 2 H), 1,54 (d, J = 6,7 Hz, 3 H), 1,32 - 1,18 (m, 8 H), 0,87 - 0,78 (m, 1 H), 0,77 - 0,67 (m, 1 H)	523
342	(R o S)-1-(1-(1-isobutirilpiperidin-4-il)etil)-N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1H-indolo-3-carboxamida	(400 MHz, DMSO-d ₆) δ = 11,59 (s, 1 H), 7,75 (d, J = 7,4 Hz, 1 H), 7,72 - 7,67 (m, 1 H), 7,64 (d, J = 8,0 Hz, 1 H), 7,14 - 7,01 (m, 2 H), 6,15 (s, 1 H), 4,58 - 4,46 (m, 1 H), 4,32 (d, J = 4,9 Hz, 2 H), 4,09 - 3,99 (m, 1 H), 3,84 (s, 3 H), 3,81 - 3,72 (m, 1 H), 3,08 - 2,97 (m, 1 H), 2,92 - 2,81 (m, 1 H), 2,78 - 2,65 (m, 3 H), 2,59 (s, 3 H), 2,20 (s, 3 H), 2,03 - 1,90 (m, 1 H), 1,59 - 1,47 (m, 4 H), 1,02 - 0,86 (m, 6 H), 0,78 - 0,69 (m, 1 H)	507
344	(R o S)-N-((4-(difluorometoxi)-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1-(1-(1-(metilsulfonil)piperidin-4-il)etil)-1H-indolo-3-carboxamida	(400 MHz, DMSO-d ₆) δ = 12,02 - 11,95 (m, 1 H), 7,74 (d, J = 8,0 Hz, 1 H), 7,66 - 7,57 (m, 2 H), 7,11 - 7,00 (m, 2 H), 6,08 (s, 1 H), 4,32 (d, J = 4,5 Hz, 2 H), 4,18 (d, J = 7,1 Hz, 1 H), 3,64 (d, J = 12,3 Hz, 1 H), 3,36 (d, J = 12,0 Hz, 1 H), 2,79 (s, 3 H), 2,75 - 2,65 (m, 2 H), 2,58 (s, 3 H), 2,45 - 2,27 (m, 2 H), 2,20 (s, 3 H), 2,07 - 1,98 (m, 1 H), 1,55 (d, J = 6,9 Hz, 3 H), 1,40 (d, J = 8,2 Hz, 1 H), 1,10 (d, J = 8,9 Hz, 1 H), 0,79 (d, J = 12,5 Hz, 1 H)	551

345	(R o S)-1-(1-(1-(etilsulfonil)piperidin-4-il)etil)-N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1H-indolo-3-carboxamida	(400 MHz, DMSO-d ₆) δ 11,57 (s, 1 H), 7,75 (d, J = 8,0 Hz, 1 H), 7,69 (t, J = 5,0 Hz, 1 H), 7,62 (d, J = 7,4 Hz, 1 H), 7,06 (d, J = 7,1 Hz, 2 H), 6,15 (s, 1 H), 4,32 (d, J = 5,1 Hz, 2 H), 4,25 - 4,15 (m, 1 H), 3,84 (s, 3 H), 3,73 - 3,65 (m, 1 H), 3,45 - 3,36 (m, 1 H), 3,02 - 2,93 (m, J = 7,8 Hz, 2 H), 2,87 - 2,77 (m, 1 H), 2,75 - 2,66 (m, 1 H), 2,60 (s, 3 H), 2,42 - 2,30 (m, 1 H), 2,20 (s, 3 H), 2,06 - 1,97 (m, 1 H), 1,58 - 1,48 (m, 4 H), 1,42-1,31 (m, 1 H), 1,17 (t, J = 7,5 Hz, 3 H), 1,13 - 1,00 (m, 1 H), 0,83 - 0,73 (m, 1 H)	529
355	(R o S)-1-(1-(4-(isopropilsulfonil)ciclohexil)etil)-N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1H-indolo-3-carboxamida	(400 MHz, DMSO-d ₆) δ 11,59 (s, 1H), 7,76-7,69 (m, 2H), 7,62 (d, 1H), 7,10-7,03 (m, 2H), 6,15 (s, 1H), 4,32 (d, 2H), 4,29-4,26 (m, 2H), 3,84 (s, 3H), 3,72 (d a, 1H), 3,45 (d a, 1H), 3,26 (tt, 1 H), 2,91 (dt, 1 H), 2,60 (s, 3H), 2,20 (s, 3H), 1,97 (d a, 1H), 1,54 (d, 3H), 1,35-1,24 (m, 2H), 1,18(d, 3H), 1,16(d, 3H), 1,05-0,78 (m, 2H)	543
357	4-(1-(3-(((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)carbamoil)-2-metil-1H-indo 1-1-il)etil)piperidin-1-carboxilato de (R o S)-isobutilo	(400 MHz, DMSO-d ₆) δ 11,60 (s a, 1H), 7,75-7,60 (m, 3H), 7,10-7,03 (m, 2H), 6,15 (s, 1H) 4,33 (d, 1H), 4,13-4,06 (m, 1 H), 3,84 (s, 3H), 3,74 (d, 1H), 2,80-2,60 (m, 3H), 2,58 (s, 1H), 2,50-2,42 (m, 2H), 1,96-1,90 (m, 1H), 1,54 (d, 3H), 1,25-1,22 (m, 1H), 0,98-0,72 (m, 6H)	537
368	(R o S)-N-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-1-(1-(1-(etilsulfonil)piperidin-4-il)etil)-2-metil-1H-indolo-3-carboxamida	(400 MHz, DMSO-d ₆) δ 11,59 (s, 1H), 7,78 - 7,71 (m, 1 H), 7,66 - 7,57 (m, 2 H), 7,07 (s, 2 H), 5,89 (s, 1 H), 4,32 (s, 2 H), 4,25-4,15 (m, 1 H), 3,65 - 3,59 (m, 1 H), 3,19 - 3,10 (m, 1 H), 2,98 (d, J = 7,4 Hz, 2 H), 2,87 - 2,77 (m, 1 H), 2,72 - 2,65 (m, 1 H), 2,58 (s, 3 H), 2,27 (s, 3 H), 2,12 (s, 3 H), 1,55 (d, J = 6,9 Hz, 4 H), 1,42 - 1,33 (m, 2 H), 1,17 (t, J = 7,4 Hz, 3 H), 1,12-1,00 (m, 1 H), 0,84 - 0,74 (m, 1 H)	513
382	(R o S)-N-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1-(1-(1-(metilsulfonil)piperidin-4-il)etil)-1H-indolo-3-carboxamida	(400 MHz, DMSO-d ₆) δ 11,60 (s, 1 H), 7,75 (d, J = 7,1 Hz, 1 H), 7,65 - 7,58 (m, 2 H), 7,12-7,02 (m, 2 H), 5,89 (s, 1 H), 4,38 - 4,25 (m, 2 H), 4,20 (dd, J = 7,0, 10,6 Hz, 1 H), 2,80 (s, 3 H), 2,76 - 2,67 (m, 2 H), 2,59 (s, 3 H), 2,46 - 2,31 (m, 2 H), 2,27 (s, 3 H), 2,12 (s, 3 H), 1,55 (d, J = 6,9 Hz, 3 H), 1,51 (s a, 1 H), 1,47 - 1,34 (m, 1 H), 1,29-1,21 (m, 1 H), 1,17- 1,04 (m, 1 H), 0,80 (d, J = 12,9 Hz, 1 H)	499

Ejemplo de referencia 2. Síntesis de (R o S)-1-(1-(1-isopropilpiperidin-4-il)etil)-N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1H-indolo-3-carboxamida (Compuesto 358)



- 5 Un vial de 25 ml se cargó con una barra de agitación magnética, clorhidrato de (R o S)-N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1-(1-(piperidin-4-il)etil)-1H-indolo-3-carboxamida, THF (2,114 ml, 0,211 mmol), propan-2-ona (0,061 g, 1,057 mmol), y triacetoxiborohidruro sódico (0,224 g, 1,057 mmol). La reacción se dejó en agitación a ta durante 12 h. La reacción se interrumpió a la inversa sobre NaHCO₃ acuoso sat., se extrajo con acetato de etilo y se concentró al vacío. El material resultante se trató con 10 ml de amoniaco 7 N en MeOH y se concentró al vacío para producir material que se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (10 g usando DCM/MeOH/NH₄OH (90:1:0,1) como eluyente para proporcionar 33 mg, (0,065 mmol, rendimiento del 31,0 %) del compuesto del título en forma de un sólido de color blanco). LCMS 479 (M+1)⁺; ¹H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz)
- 10 δ 11,59 (s., 1H), 7,64 - 7,82 (m, 2H), 7,59 (d, 1H), 6,95 - 7,17 (m, 2H), 6,15 (s, 1H), 4,32 (d, 2H), 4,04 - 4,24 (m, 1H),
- 15 3,84 (□, 3H), 2,77 - 2,93 (□, 2H), 2,68 (□, 1H), 2,60 (□, 3H), 2, 20 (□, 3H), 2,08 - 2,15 (□, 1H), 1,92 (□, 1H), 1,83 (□, 1H), 1,54 (□, 3H), 1,27 - 1,43 (□, 2H), 0,91 (□, 6H), 0,71-0,67 (□, 2H).

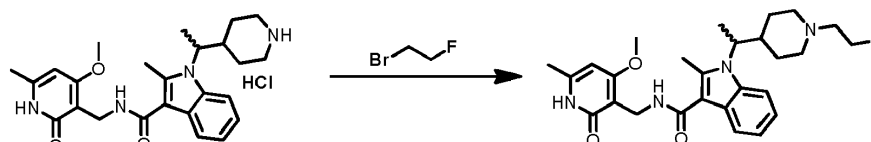
Los compuestos mostrados en la siguiente tabla se prepararon de acuerdo con el procedimiento general descrito en este Ejemplo usando los materiales de partida apropiados. Las estructuras de los compuestos se muestran en la figura 1.

5

Compuesto Número	Nombre	¹ H RMN	m/z
341	(R o S)-N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1-(1-(1-(oxetan-3-il)piperidin-4-il)etil)-1H-indolo-3-carboxamida	(400 MHz, DMSO-d ₆) δ 11,58 (s, 1 H), 7,76 - 7,65 (m, 2 H), 7,59 (d, J = 7,8 Hz, 1 H), 7,10 - 6,99 (m, 2 H), 6,14 (s, 1 H), 4,49 (t, J = 6,4 Hz, 1 H), 4,43 (t, J = 6,5 Hz, 1 H), 4,37 (t, J = 6,1 Hz, 1 H), 4,34 - 4,28 (m, 3 H), 4,21 - 4,10 (m, 1 H), 3,83 (s, 3 H), 3,30 - 3,23 (m, 1 H), 2,75 (s a, 1 H), 2,71 - 2,64 (m, 1 H), 2,60 (s, 3 H), 2,19 (s, 4 H), 1,90 (s a, 1 H), 1,75 (s a, 1 H), 1,53 (d, J = 6,9 Hz, 3 H), 1,42 (s a, 2 H), 1,11 - 0,98 (m, 1 H), 0,72 - 0,63 (m, 1 H)	493
343	(R o S)-N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1-(1-(1-metilpiperidin-4-il)etil)-1H-indolo-3-carboxamida	(400 MHz, DMSO-d ₆) δ 11,58 (s, 1 H), 7,76 - 7,65 (m, 2 H), 7,59 (d, J = 7,6 Hz, 1 H), 7,11 - 6,99 (m, 2 H), 6,14 (s, 1 H), 4,31 (d, J = 5,1 Hz, 2 H), 4,13 (s a, 1 H), 3,83 (s, 3 H), 2,83 (d, J = 10,0 Hz, 1 H), 2,61 - 2,52 (m, 5 H), 2,19 (s, 3 H), 2,09 (s, 4 H), 1,88 (d, J = 10,7 Hz, 2 H), 1,53 (d, J = 6,7 Hz, 3 H), 1,34 (s a, 1 H), 1,02 (d, J = 8,2 Hz, 1 H), 0,66 (s a, 1 H)	451
359	(R o S)-N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-1-(1-(1-(2-metoxietil)piperidin-4-il)etil)-2-metil-1H-indolo-3-carboxamida	(400 MHz, DMSO-d ₆) δ 11,59 (s, 1 H), 7,77 - 7,66 (m, 2 H), 7,60 (d, J = 7,8 Hz, 1 H), 7,12 - 7,01 (m, 2 H), 6,15 (s, 1 H), 4,32 (d, J = 4,9 Hz, 2 H), 4,13 (d, J = 7,1 Hz, 1 H), 3,85 (s, 3 H), 3,36 (t, J = 5,9 Hz, 2 H), 3,19 (s, 3 H), 2,94 (d, J = 10,5 Hz, 1 H), 2,71 - 2,56 (m, 5 H), 2,43 - 2,32 (m, 2 H), 2,24 - 2,12 (m, 4 H), 1,54 (d, J = 6,9 Hz, 4 H), 1,39 - 1,27 (m, 2 H), 1,02 (d, J = 8,7 Hz, 1 H), 0,65 (d, J = 12,7 Hz, 1 H)	495
360	(R o S)-1-(1-(1-etilpiperidin-4-il)etil)-N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1H-indolo-3-carboxamida	(400 MHz, DMSO-d ₆) δ 11,79 - 11,45 (m, 1 H), 7,78 - 7,65 (m, 2 H), 7,59 (d, J = 7,8 Hz, 1 H), 7,14 - 6,99 (m, 2 H), 6,15 (s, 1 H), 4,32 (d, J = 4,9 Hz, 2 H), 4,20 - 4,08 (m, 1 H), 3,84 (s, 3 H), 2,98 - 2,89 (m, 1 H), 2,71 - 2,61 (m, 2 H), 2,59 (s, 3 H), 2,27 - 2,21 (m, 2 H), 2,20 (s, 3 H), 1,94 - 1,80 (m, 2 H), 1,54 (s, 4 H), 1,38 - 1,28 (m, 1 H), 1,06 - 0,98 (m, 1 H), 0,93 (t, J = 7,1 Hz, 3 H), 0,71 - 0,63 (m, 1 H)	465
363	2-(4-(1-(3-(((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)carbamoil)-2-metil-1H-indol-1-il)etil)piperidin-1-il)acetato de (R o S)-etilo	(400 MHz, DMSO-d ₆) δ 11,59 (s a, 1 H), 7,81 - 7,65 (m, 2 H), 7,60 (d, J = 7,4 Hz, 1 H), 7,16 - 6,98 (m, 2 H), 6,15 (s, 1 H), 4,32 (d, J = 4,9 Hz, 2 H), 4,23 - 4,11 (m, 1 H), 4,04 (c, J = 7,0 Hz, 2 H), 3,84 (s, 3 H), 2,95 - 2,86 (m, 1 H), 2,60 (s, 5 H), 2,20 (s, 4 H), 1,94 - 1,79 (m, 2 H), 1,54 (d, J = 6,9 Hz, 4 H), 1,41 - 1,32 (m, 1 H), 1,15 (t, J = 7,1 Hz, 3 H), 1,04 (d, J = 6,0 Hz, 2 H), 0,71 - 0,61 (m, 1 H)	523
366	(R o S)-N-((4-etil-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1-(1-(1-metilpiperidin-4-il)etil)-1H-indolo-3-carboxamida	(400 MHz, DMSO-d ₆) δ 11,63 (s, 1 H), 7,74 (d, J = 7,6 Hz, 1 H), 7,65 - 7,56 (m, 2 H), 7,12 - 7,01 (m, 2 H), 5,94 (s, 1 H), 4,34 (t, J = 5,1 Hz, 2 H), 4,19 - 4,09 (m, 1 H), 2,88 (s a, 1 H), 2,71 - 2,56 (m, 6 H), 2,14 (s, 7 H), 1,91 (d, J = 12,5 Hz, 1 H), 1,54 (d, J = 6,9 Hz, 4 H), 1,41 - 1,31 (m, 2 H), 1,14 (t, J = 7,6 Hz, 3 H), 1,05 (d, J = 9,1 Hz, 1 H), 0,68 (d, J = 12,7 Hz, 1 H)	449
367	(R o S)-N-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1-(1-(1-metilpiperidin-4-il)etil)-1H-indolo-3-carboxamida	(400 MHz, DMSO-d ₆) δ 11,59 (s, 1 H), 7,74 (d, J = 6,9 Hz, 1 H), 7,65 - 7,56 (m, 2 H), 7,12 - 7,01 (m, 2 H), 5,89 (s, 1 H), 4,38 - 4,25 (m, 2 H), 4,20 - 4,09 (m, 1 H), 2,95 (s a, 1 H), 2,68 (s a, 2 H), 2,58 (s, 3 H), 2,27 (s, 3 H), 2,21 (s a, 3 H), 2,12 (s, 3 H), 1,94 (d, J = 13,8 Hz, 1 H), 1,54 (d, J = 6,9 Hz, 4 H), 1,44 - 1,31 (m, 2 H), 1,07 (d, J = 12,5 Hz, 1 H), 0,71 (d, J = 13,2 Hz, 1 H)	435

375	(R o S)-N-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1-(1-(1-(oxetan-3-il)piperidin-4-il)etil)-1H-indolo-3-carboxamida	(400 MHz, DMSO-d ₆) δ 11,59 (s a, 1 H), 7,73 (d, J = 7,6 Hz, 1 H), 7,65 - 7,55 (m, 2 H), 7,12 - 7,00 (m, 2 H), 5,89 (s, 1 H), 4,53 - 4,48 (m, 1 H), 4,47 - 4,42 (m, 1 H), 4,38 (s, 1 H), 4,31 (t, J = 5,2 Hz, 3 H), 4,21 - 4,10 (m, 1 H), 3,31 - 3,24 (m, 2 H), 2,81 - 2,64 (m, 2 H), 2,59 (s, 3 H), 2,26 (s, 3 H), 2,23 - 2,16 (m, 1 H), 2,12 (s, 3 H), 1,98 - 1,85 (m, 1 H), 1,81 - 1,70 (m, 1 H), 1,54 (d, J = 6,9 Hz, 3 H), 1,51 - 1,22 (m, 1 H), 1,12 - 0,96 (m, 2 H), 0,73 - 0,64 (m, 1 H)	477
380	(R o S)-N-((4-etil-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1-(1-(1-(oxetan-3-il)piperidin-4-il)etil)-1H-indolo-3-carboxamida	(400 MHz, DMSO-d ₆) δ 11,63 (s a, 1 H), 7,74 (d, J = 7,36 Hz, 1 H), 7,60 (d, J = 8,47 Hz, 2 H), 7,06 (quin, J = 7,13 Hz, 3 H), 5,94 (s, 1 H), 4,51 (t, J = 6,47 Hz, 1 H), 4,46 (t, J = 6,35 Hz, 1 H), 4,40 (t, J = 6,13 Hz, 1 H), 4,37 - 4,30 (m, 2 H), 4,28 - 4,11 (m, 1 H), 3,57 (s, 1 H), 3,34 (s a, 2 H), 2,81 (d, J = 10,70 Hz, 1 H), 2,67 (d, J = 14,94 Hz, 1 H), 2,64 - 2,57 (m, 4 H), 2,21 (d, J = 10,93 Hz, 1 H), 2,14 (s, 3 H), 1,93 (d, J = 12,49 Hz, 1 H), 1,83 (t, J = 11,37 Hz, 1 H), 1,54 (d, J = 6,91 Hz, 3 H), 1,37 (d, J = 10,48 Hz, 1 H), 1,25 (c, J = 6,91 Hz, 1 H), 1,14 (t, J = 7,58 Hz, 3 H), 1,06 (d, J = 9,81 Hz, 1 H), 0,70 (d, J = 12,49 Hz, 1 H)	491
381	(R o S)-N-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1-(1-(1-(tetrahydro-2H-piran-4-il)piperidin-4-il)etil)-1H-indolo-3-carboxamida	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 11,60 (s a, 1 H), 7,74 (d, J = 7,13 Hz, 1 H), 7,66 - 7,50 (m, 2 H), 7,15 - 6,99 (m, 2 H), 5,89 (s, 1 H), 4,40 - 4,24 (m, 2 H), 4,21 - 4,07 (m, 1 H), 3,95 - 3,78 (m, 2 H), 3,57 (s, 1 H), 3,32 - 3,17 (m, 3 H), 2,68 (s a, 1 H), 2,58 (s, 3 H), 2,33 (s a, 2 H), 2,27 (s, 3 H), 2,12 (s, 3 H), 2,00 - 1,88 (m, 2 H), 1,75 (d, J = 12,04 Hz, 1 H), 1,62 (s a, 2 H), 1,54 (d, J = 6,91 Hz, 3 H), 1,46 - 1,30 (m, 2 H), 1,01 (s a, 1 H), 0,72 (s a, 1 H)	505
440	3-(4-(1-(3-(((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)carbamoil)-2-metil-1H-indol-1-il)etil)piperidin-1-il)azetidín-1-carboxilato de (R o S)-terc-butilo		576
377	(R o S)-N-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1-(1-(1-(1-metilazetidín-3-il)piperidin-4-il)etil)-1H-indolo-3-carboxamida	(400 MHz, DMSO-d ₆) δ 11,63 - 11,56 (m, 1 H), 7,76 - 7,70 (m, 1 H), 7,64 - 7,55 (m, 2 H), 7,05 (s, 2 H), 5,89 (s, 1 H), 4,56 (s, 4 H), 4,31 (s, 2 H), 4,19 - 4,09 (m, 1 H), 3,36 (d, J = 4,9 Hz, 1 H), 2,77 - 2,56 (m, 5 H), 2,26 (s, 3 H), 2,18 (s, 3 H), 2,12 (s, 3 H), 1,94 - 1,85 (m, 1 H), 1,78 - 1,67 (m, 1 H), 1,53 (d, J = 6,9 Hz, 3 H), 1,50 - 1,45 (m, 1 H), 1,44 - 1,22 (m, 2 H), 1,07 - 0,93 (m, 1 H), 0,71 - 0,61 (m, 1 H)	490

Ejemplo 3. Síntesis de (R o S)-1-(1-(1-(2-fluoroetil)piperidin-4-il)etil)-N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1H-indolo-3-carboxamida (Compuesto 356):



5 Un vial de 25 ml se cargó con una barra de agitación magnética, clorhidrato de (R o S)-N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1-(1-(piperidin-4-il)etil)-1H-indolo-3-carboxamida (0,062 g, 0,131 mmol), K₂CO₃ (0,072 g, 0,524 mmol), MeCN (0,655 ml, 0,131 mmol), DMF (0,262 ml, 0,131 mmol) y 1-bromo-2-fluoroetano (0,020 ml, 0,262 mmol). La reacción se tapó y se calentó a 82 °C con agitación durante 4 h. La reacción se dejó

10 enfriar a ta, se filtró, y el filtrado se pre-adsorbió sobre gel de sílice (12 g). El material se purificó a través de cromatografía sobre SiO₂ (25 g) usando DCM/MeOH/Et₃N (85:15:0,5) como eluyente para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanquecino (30 mg, 0,059 mmol, rendimiento del 45,1 %). LCMS 483 (M+1)⁺; ¹H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 11,59 (s, 1H), 7,75-7,68 (m, 2H), 7,60 (d, 1 H) 7,09-7,03 (m, 2H), 6,15 (s, 1H) 4,53-4,51 (m, 1H), 4,42-4,39 (m, 1H), 4,32 (d, 2H), 4,24-4,2 (m, 1H), 3,84 (s, 3H), 2,98 (d a, 1 H), 2,70-2,49

15 (m, 4H), 2,60 (s, 3H), 2,20 (s, 3H), 2,01 (dt, 1H), 1,92-1,90 (m, 1H), 1,75-1,71 (m, 1H), 1,54 (d, 3H), 1,38-1,36 (m, 1H), 1,02-0,98 (m, 1H), 0,7-0,66 (d a, 1H).

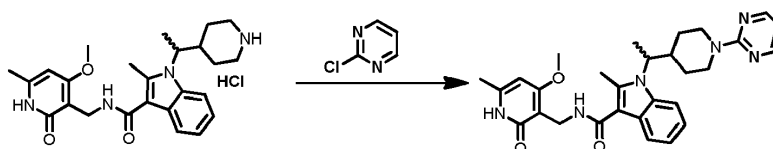
Los compuestos mostrados en la siguiente tabla se prepararon de acuerdo con el procedimiento general descrito en este Ejemplo usando los materiales de partida apropiados. Las estructuras de los compuestos se muestran en la

20 figura 1.

Compuesto Número	Nombre	¹ H RMN	m/z
362	(R o S)-1-(1-(1-(2,2-difluoroetil)piperidin-4-il)etil)-N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1H-indolo-3-carboxamida	(400 MHz, DMSO-d ₆) δ = 11,60 (s a, 1 H), 7,77 - 7,66 (m, 2 H), 7,60 (d, J = 7,6 Hz, 1 H), 7,14 - 7,00 (m, 2 H), 6,15 (s, 1 H), 6,06 (t, J = 55,7 Hz, 1 H), 4,32 (d, J = 4,9 Hz, 2 H), 4,15 (s a, 1 H), 3,84 (s, 3 H), 3,03 - 2,93 (m, 2 H), 2,73 - 2,62 (m, 3 H), 2,60 (s, 3 H), 2,26 - 2,10 (m, 4 H), 1,93 - 1,79 (m, 1 H), 1,59 - 1,46 (m, 4 H), 1,41 - 1,29 (m, 1 H), 1,11 - 0,97 (m, 1 H), 0,67 (s a, 1 H)	501
378	(R o S)-N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1-(1-(1-(3,3,3-trifluoropropil)piperidin-4-il)etil)-1H-indolo-3-carboxamida	(400 MHz, DMSO-d ₆) δ = 11,60 (s a, 1 H), 7,78 - 7,66 (m, 2 H), 7,60 (d, J = 8,2 Hz, 1 H), 7,13 - 7,00 (m, 2 H), 6,15 (s, 1 H), 4,32 (d, J = 4,9 Hz, 2 H), 4,22 - 4,09 (m, 1 H), 3,84 (s, 3 H), 3,03 - 2,91 (m, 1 H), 2,73 - 2,64 (m, 1 H), 2,60 (s, 3 H), 2,48 - 2,31 (m, 5 H), 2,20 (s, 3 H), 2,01 - 1,85 (m, 2 H), 1,58 - 1,46 (m, 4 H), 1,36 - 1,29 (m, 1 H), 1,08 - 0,98 (m, 1 H), 0,73 - 0,62 (m, 1 H)	533
365	(R o S)-N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1-(1-(1-(2,2,2-trifluoroetil)piperidin-4-il)etil)-1H-indolo-3-carboxamida	(500 MHz, DMSO-d ₆) δ = 11,59 (s, 1 H), 7,74 (d, J = 7,6 Hz, 1 H), 7,71 - 7,66 (m, 1 H), 7,61 (d, J = 7,8 Hz, 1 H), 7,13 - 7,01 (m, 2 H), 6,15 (s, 1 H), 4,32 (d, J = 4,9 Hz, 2 H), 4,22 - 4,12 (m, 1 H), 3,84 (s, 3 H), 3,15 - 2,95 (m, 3 H), 2,75 - 2,66 (m, 1 H), 2,60 (s, 3 H), 2,39 - 2,31 (m, 1 H), 2,20 (s, 3 H), 2,05 - 1,98 (m, 1 H), 1,92 - 1,84 (m, 1 H), 1,56 - 1,46 (m, 4 H), 1,42 - 1,32 (m, 1 H), 1,11 - 1,01 (m, 1 H), 0,69 - 0,62 (m, 1 H)	519
441	(R o S)-1-(1-(1-(2,2-difluoroetil)piperidin-4-il)etil)-N-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1H-indolo-3-carboxamida	(400 MHz, DMSO-d ₆) δ = 11,59 (s, 1 H), 7,73 (d, J = 7,8 Hz, 1 H), 7,65 - 7,55 (m, 2 H), 7,12 - 7,00 (m, 2 H), 6,22 - 5,90 (m, 1 H), 5,89 (s, 1 H), 4,36 - 4,25 (m, 2 H), 4,20 - 4,09 (m, 1 H), 3,01 - 2,93 (m, 1 H), 2,72 - 2,59 (m, 3 H), 2,58 (s, 3 H), 2,26 (s, 3 H), 2,21 - 2,13 (m, 2 H), 2,12 (s, 3 H), 1,92 - 1,79 (m, 2 H), 1,53 (s, 4 H), 1,41 - 1,29 (m, 1 H), 1,10 - 0,97 (m, 1 H), 0,70 - 0,59 (m, 1 H)	485

Ejemplo de referencia 4. Síntesis de (R o S)-N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1-(1-(1-(pirimidin-2-il)piperidin-4-il)etil)-1H-indolo-3-carboxamida (Compuesto 361).

5

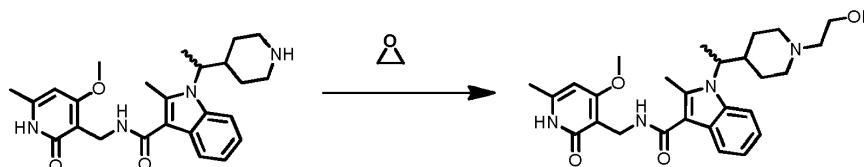


En un vial resellable se añadieron 2-cloropirimidina (185 mg, 1,611 mmol), clorhidrato de (R o S)-N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1-(1-(piperidin-4-il)etil)-1H-indolo-3-carboxamida (508 mg, 1,074 mmol), y EtOH (8 ml). A esta solución se le añadió Et₃N (449 μl, 3,22 mmol). El vial se cerró herméticamente y se calentó a 100 °C durante una noche. La solución se dejó enfriar a temperatura ambiente y se concentró al vacío. El residuo en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (hexanos: (3:2 de DCM:IPA)) para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido (357 mg, 0,694 mmol, rendimiento del 64,6 %). LCMS 515 (M+1)⁺; ¹H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 11,60 (s, 1 H), 8,30 (d, J = 4,7 Hz, 2 H), 7,76 (d, J = 7,6 Hz, 1 H), 7,73 - 7,64 (m, 2 H), 7,14 - 7,01 (m, 2 H), 6,55 (t, J = 4,7 Hz, 1 H), 6,15 (s, 1 H), 4,84 - 4,75 (m, 1 H), 4,57 - 4,47 (m, 1 H), 4,33 (d, J = 4,2 Hz, 2 H), 4,22 - 4,11 (m, 1 H), 3,84 (s, 3 H), 2,92 - 2,81 (m, 1 H), 2,63 - 2,52 (m, 4 H), 2,20 (s, 3 H), 2,05 - 1,94 (m, 1 H), 1,61 - 1,49 (m, 4 H), 1,34 - 1,21 (m, 1 H), 1,04 - 0,91 (m, 1 H), 0,83 - 0,75 (m, 1 H).

El compuesto mostrado en la siguiente tabla se preparó de acuerdo con el procedimiento general descrito en este Ejemplo usando los materiales de partida apropiados. La estructura del compuesto se muestra en la figura 1.

20

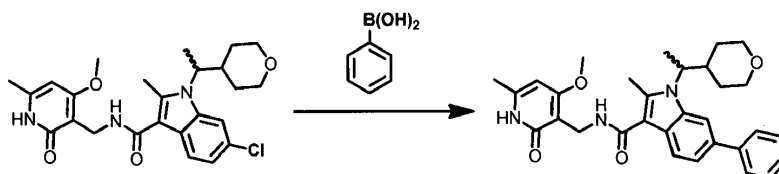
Compuesto Número	Nombre	¹ H RMN	m/z
373	(R o S)-N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1-(1-(1-(piridin-2-il)piperidin-4-il)etil)-1H-indolo-3-carboxamida	(400 MHz, DMSO-d ₆) δ 11,60 (s a, 1 H), 8,06 (d, J = 3,6 Hz, 1 H), 7,82 - 7,62 (m, 3 H), 7,51 - 7,39 (m, 1 H), 7,17 - 6,98 (m, 2 H), 6,75 (d, J = 8,5 Hz, 1 H), 6,61 - 6,49 (m, 1 H), 6,15 (s, 1 H), 4,49 - 4,38 (m, 1 H), 4,33 (d, J = 3,8 Hz, 2 H), 4,24 - 4,03 (m, 2 H), 3,85 (s, 3 H), 2,90 - 2,70 (m, 2 H), 2,58 (s, 3 H), 2,20 (s, 3 H), 2,06 - 1,91 (m, 1 H), 1,63 - 1,47 (m, 4 H), 1,40 - 1,27 (m, 1 H), 1,07 - 0,94 (m, 1 H), 0,82 - 0,72 (m, 1 H)	514

Ejemplo de referencia 5. Síntesis de (R o S)-1-(1-(1-(2-hidroxi-etil)piperidin-4-il)etil)-N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1H-indolo-3-carboxamida (Compuesto 347).

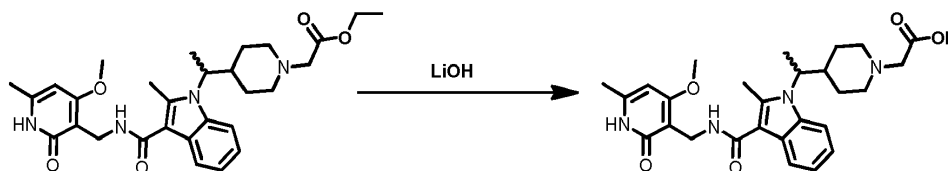
5 En un tubo cerrado herméticamente cargado con una barra de agitación magnética se añadió (R o S)-N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1-(1-(piperidin-4-il)etil)-1H-indolo-3-carboxamida (0,1 g, 0,229 mmol) y DCM (3 ml) y la reacción se enfrió a 0 °C. A la mezcla de reacción enfriada se le añadió oxirano que se condensó en el vial de reacción (~1 ml). La reacción se dejó en agitación a ta durante 4 h y después se concentró al vacío para proporcionar el material en bruto que se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (12 g) usando acetato de etilo/MeOH (4:1) como eluyente para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanco (50 mg). LCMS 481 (M+1)⁺; ¹H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 11,58 (s, 1 H), 7,77 - 7,65 (m, 2 H), 7,59 (d, J = 7,8 Hz, 1 H), 7,11 - 6,99 (m, 2 H), 6,14 (s, 1 H), 4,54 - 4,44 (m, 1 H), 4,31 (d, J = 5,1 Hz, 3 H), 4,13 (dd, J = 7,1, 10,3 Hz, 1 H), 3,83 (s, 3 H), 3,42 (c, J = 6,0 Hz, 2 H), 2,93 (s a, 1 H), 2,71 - 2,56 (m, 4 H), 2,31 (s a, 2 H), 2,19 (s, 3 H), 2,03 - 1,83 (m, 2 H), 1,64 (s a, 1 H), 1,53 (d, J = 6,9 Hz, 3 H), 1,32 (d, J = 11,1 Hz, 1 H), 1,02 (d, J = 10,3 Hz, 1 H), 0,65 (d, J = 11,8 Hz, 1 H).

Los compuestos mostrados en la siguiente tabla se prepararon de acuerdo con el procedimiento general descrito en este Ejemplo usando los materiales de partida apropiados. Las estructuras de los compuestos se muestran en la figura 1.

Compuesto Número	Nombre	¹ H RMN	m/z
352	(R o S)-1-(1-(1-(2-hidroxi-2-metilpropil)piperidin-4-il)etil)-N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1H-indolo-3-carboxamida	RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 11,58 (s a, 1 H), 7,76 - 7,65 (m, 2 H), 7,58 (d, J = 7,8 Hz, 1 H), 7,10 - 6,99 (m, 2 H), 6,14 (s, 1 H), 4,31 (d, J = 4,9 Hz, 2 H), 4,14 (s a, 1 H), 3,94 (s, 1 H), 3,83 (s, 3 H), 3,56 (s, 2 H), 3,01 (d, J = 11,4 Hz, 1 H), 2,73 - 2,64 (m, 1 H), 2,59 (s, 3 H), 2,19 (s, 3 H), 2,16 - 2,03 (m, 2 H), 1,52 (d, J = 6,9 Hz, 4 H), 1,34 (s a, 2 H), 1,02 (d, J = 4,5 Hz, 7 H), 0,66 - 0,58 (m, 1 H)	509
369	(R o S)-N-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-1-(1-(1-(2-hidroxi-2-metilpropil)piperidin-4-il)etil)-2-metil-1H-indolo-3-carboxamida	(400 MHz, DMSO-d ₆) δ 11,59 (s a, 1 H), 7,77 - 7,69 (m, 1 H), 7,60 (s a, 2 H), 7,06 (s a, 2 H), 5,89 (s, 1 H), 4,31 (t, J = 5,7 Hz, 2 H), 4,20 - 4,09 (m, 1 H), 4,00 - 3,92 (m, 1 H), 3,58 - 3,55 (m, 2 H), 3,19 - 3,10 (m, 1 H), 3,07 - 2,95 (m, 1 H), 2,74 - 2,63 (m, 1 H), 2,59 (s a, 3 H), 2,27 (s, 3 H), 2,12 (s, 3 H), 1,89 - 1,72 (m, 1 H), 1,54 (s a, 4 H), 1,30 - 1,14 (m, 2 H), 1,03 (s a, 6 H), 0,84 - 0,57 (m, 2 H)	493

Ejemplo 6. Síntesis de (R o S)-N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-6-fenil-1-(1-(tetrahydro-2H-piran-4-il)etil)-1H-indolo-3-carboxamida (Compuesto 374).

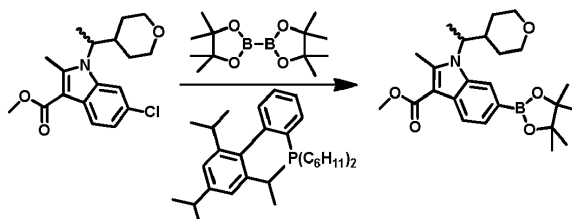
Un tubo de reacción de 25 ml se cargó con una barra de agitación magnética, ácido fenilborónico (72,6 mg, 0,596 mmol), K₃PO₄ (103 mg, 0,447 mmol), pre-catalizador X-Phos (Cloro(2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-triisopropil-1,1'-bifenil)[2-(2-aminoetil)fenil]paladio (III)) (4,92 mg, 5,96 μmol), y el vial se cerró herméticamente. El vial se evacuó/rellenó con nitrógeno (3 x) antes de la adición de 6-cloro-2-metil-1-(1-(tetrahydro-2H-piran-4-il)etil)-1H-indolo-3-carboxilato de metilo (Compuesto 314) (100 mg, 0,298 mmol) en forma de una solución en 1,4-dioxano (1 ml). Después, el vial se calentó a 100 °C durante una noche con agitación. Después, el vial se dejó enfriar a temperatura ambiente y la reacción se concentró al vacío. El residuo en bruto se purificó a través de cromatografía sobre SiO₂ (10 g) usando un eluyente de acetato de etilo/hexanos (4:1) el compuesto del título en forma de un sólido de color blanco (106 mg, 0,281 mmol, rendimiento del 94 %). LCMS 514 (M+1)⁺; ¹H RMN ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 11,59 (s, 1 H), 7,98 - 7,84 (m, 2 H), 7,75 - 7,67 (m, 3 H), 7,47 (t, J = 7,8 Hz, 2 H), 7,39 (d, J = 8,5 Hz, 1 H), 7,35 - 7,27 (m, 1 H), 6,15 (s, 1 H), 4,35 (d, J = 4,9 Hz, 2 H), 4,25 - 4,12 (m, 1 H), 3,93 (d, J = 8,5 Hz, 1 H), 3,86 - 3,77 (m, 3 H), 3,67 (d, J = 8,5 Hz, 1 H), 3,39 - 3,32 (m, 1 H), 3,10 - 3,00 (m, 1 H), 2,62 (s, 3 H), 2,21 (s, 3 H), 1,85 (d, J = 10,0 Hz, 1 H), 1,63 - 1,49 (m, 4 H), 1,45 - 1,33 (m, 1 H), 1,20 - 0,99 (m, 1 H), 0,66 (d, J = 12,0 Hz, 1 H).

Ejemplo de referencia 7. Síntesis de ácido (R o S)-2-(4-(1-(3-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metilcarbamoil)-2-metil-1H-indol-1-il)etil)piperidin-1-il)acético (Compuesto 364).

- 5 En un matraz de fondo redondo cargada con una barra de agitación magnética se añadieron 2-(4-(1-(3-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metilcarbamoil)-2-metil-1H-indol-1-il)etil)piperidin-1-il)acetato de (R o S)-etilo (Compuesto 363) (69 mg, 0,132 mmol), THF (1,5 ml), MeOH (1,5 ml), y agua (0,75 ml). A esta solución se le añadió hidróxido de litio monohidrato (5,54 mg, 0,132 mmol) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Los
- 10 extractos orgánicos se retiraron a presión reducida y la solución acuosa resultante se purificó a través de HPLC de fase inversa (agua/MeCN) 0 → 95 % para proporcionar el compuesto del título (66 mg, 0,108 mmol, rendimiento del 82 %). LCMS 514 (M+1)⁺ H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 11,67 (s, 1 H), 9,65 (s, 1 H), 7,84 - 7,68 (m, 2 H), 7,63 (d, J = 7,4 Hz, 1 H), 7,14 - 7,03 (m, 2 H), 6,18 (s, 1 H), 4,33 (d, J = 3,6 Hz, 2 H), 4,27 - 4,15 (m, 1 H), 4,04 (s a, 2 H), 3,85 (s, 3 H), 3,57 (s, 1 H), 3,35 - 3,23 (m, 1 H), 3,14 - 2,99 (m, 1 H), 2,86 - 2,74 (m, 1 H), 2,62 (s, 3 H), 2,21 (s, 3 H),
- 15 2,18 - 2,08 (m, 1 H), 1,75 (s, 1 H), 1,60 - 1,49 (m, 4 H), 1,46 - 1,33 (m, 1 H), 0,92-0,81 (m, 1 H).

Ejemplo 8. Síntesis de 2-metil-6-(piridin-3-il)-1-(1-(tetrahydro-2H-piran-4-il)etil)-1H-indolo-3-carboxilato de (R o S)-metilo. Este intermedio se usó como un material de partida alternativo en la Etapa 7 expuesta en el Ejemplo 1 para la síntesis de otros compuestos de la invención.

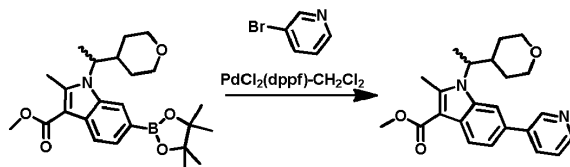
- 20 **2-Metil-1-(1-(tetrahydro-2H-piran-4-il)etil)-6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-indolo-3-carboxilato de (R o S)-metilo**



- 25 En un matraz de fondo redondo se añadieron Pd(OAc)₂ (10,03 mg, 0,045 mmol), acetato potásico (219 mg, 2,233 mmol), 4,4,4',4',5,5,5'-octametil-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolano) (567 mg, 2,233 mmol), y 2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-triisopropilbifenilo (XPPhos) (85 mg, 0,179 mmol), y el vial se cerró herméticamente. En este recipiente se añadió 6-cloro-2-metil-1-(1-(tetrahydro-2H-piran-4-il)etil)-1H-indolo-3-carboxilato de (R o S)-metilo (Etapa 6) (500 mg, 1,489 mmol) disuelto en dioxano (3,4 ml) y la reacción se evacuó/rellenó con N₂ (3 x) antes del calentamiento a
- 30 100 °C durante una noche. Después, la reacción se dejó enfriar a ta y se diluyó con EtOAc. La reacción se filtró a través de tierra de diatomeas y el filtrado se concentró para proporcionar el compuesto del título que se usó en reacciones posteriores sin purificación adicional. LCMS 428 (M+1)⁺.

2-Metil-6-(piridin-3-il)-1-(1-(tetrahydro-2H-piran-4-il)etil)-1H-indolo-3-carboxilato de (R o S)-metilo:

35



- En un vial resellable se añadieron K₂CO₃ (206 mg, 1,488 mmol), un aducto de PdCl₂(dppf)·CH₂Cl₂ (60,8 mg, 0,074 mmol), y el vial se cerró herméticamente. Este vial se evacuó/rellenó con N₂ (3 x) antes de la adición de 2-metil-1-(1-(tetrahydro-2H-piran-4-il)etil)-6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-indolo-3-carboxilato de (R o S)-metilo (318 mg, 0,744 mmol) disuelto en 1,4-dioxano (4 ml), 3-bromopiridina (71,7 μl, 0,744 mmol), y agua (400 μl). La reacción se evacuó/rellenó con N₂ (3 x) antes de calentarse 100 °C. La solución se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó con EtOAc. La solución se filtró y se concentró al vacío. El residuo en bruto se purificó por
- 40 cromatografía sobre gel de sílice (10 g, EtOAc/hex (1:1)) para proporcionar el compuesto del título (101 mg, 0,267 mmol, rendimiento del 35,9 %). LCMS 379 (M+1)⁺.

45

Ejemplo 9. Otros intermedios de carboxilato de alquilo. Los siguientes intermedios de carboxilato de alquilo se sintetizaron de una manera análoga a la expuesta en la Etapa 2 del Ejemplo 1, usando un material de partida y reactivo apropiados.

Nombre	Estructura	m/z
5-fluoro-1-(1-metoxipropan-2-il)-2-metil-1H-indolo-3-carboxilato de (±)-etilo		294
6-fluoro-1-(1-metoxipropan-2-il)-2-metil-1H-indolo-3-carboxilato de (±)-etilo		294
1-(1-metoxipropan-2-il)-2-metil-1H-indolo-3-carboxilato de (±)-etilo		276
1-(1-metoxipropan-2-il)-2-metil-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-3-carboxilato de (±)-terc-butilo		305
1-(1-etoxipropan-2-il)-2-metil-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-3-carboxilato de (±)-terc-butilo		319
1-(3-metoxibutan-2-il)-2-metil-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-3-carboxilato de terc-butilo		319
1-(3-metoxibutan-2-il)-2-metil-6-(metilsulfonil)-1H-indolo-3-carboxilato de etilo		368
1-(3-metoxipentan-2-il)-2-metil-1H-indolo-3-carboxilato de (±)-etilo		304

Ejemplo 10. Otros compuestos de la invención producidos a partir de intermedios de ácido carboxílico. Los siguientes compuestos se sintetizaron de una manera análoga a la expuesta en la Etapa 4 del Ejemplo 1, usando un material de partida apropiado. Las estructuras de estos compuestos se exponen en la figura 1.

Compuesto	Nombre	¹ H RMN	m/z
304	(±)-1-(1-(4,4-difluorociclohexil)etil)-N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1H-indolo-3-carboxamida	(CDCl ₃ , 400 MHz) δ 12,63-12,64 (d, J = 3,2 Hz, 1H), 7,84(s, 1H), 7,49 (s, 1H), 7,42-7,40 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 7,06-7,00 (m, 2H), 5,90-5,89 (d, J = 3,6 Hz 1H), 4,66-4,62 (t, J = 14 Hz, 2H), 4,11-4,08 (m, 1H), 3,88-3,87 (d, J = 3,6 Hz, 3H), 2,99-2,76 (m, 3H), 2,36 (s,1H), 2,25 (s, 3H), 2,17-2,16 (d, J = 3,2 Hz, 2H), 2,08-2,05 (m, 2H), 1,84-1,70 (m, 2H), 1,61 (s, 1H), 1,51-1,47 (m, 2H)	427

ES 2 632 241 T3

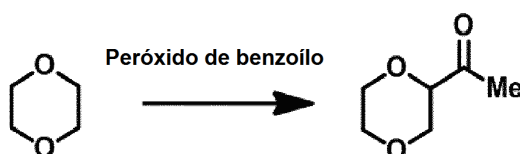
230	(±)-5-fluoro-N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-1-(1-metoxipropan-2-il)-2-metil-1H-indolo-3-carboxamida	(400 MHz, CD ₃ OD) δ 7,59-7,55 (m, 1H), 7,42-7,39 (m, 1H), 6,95-6,90 (m, 2H), 4,57 (s, 2H), 4,12 (s, 3H), 3,99-3,94 (m, 1H), 3,72-3,65 (m, 1H), 3,19 (s, 3H), 2,64(s, 3H), 2,54 (s, 3H), 1,59-1,57(d, 3H)	416
231	(±)-6-fluoro-N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-1-(1-metoxipropan-2-il)-2-metil-1H-indolo-3-carboxamida	(400 MHz, CD ₃ OD) δ 7,70-7,66 (m, 1H), 7,36-7,33 (m, 1H), 6,94-6,89 (m, 2H), 4,56 (s, 2H), 4,11 (s, 3H), 3,97-3,92 (m, 1H), 3,71-3,67 (m, 1H), 3,20 (s, 3H), 2,62(s, 3H), 2,53 (s, 3H), 1,58-1,56(d, 3H)	416
218	(±)-N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-1-(1-metoxipropan-2-il)-2-metil-1H-indolo-3-carboxamida	(400 MHz, CD ₃ OD) δ 7,69 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 7,53 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 7,12 (m, 2H), 6,26 (s, 1H), 4,80(m,1H), 4,52 (s,2H), 3,99 (m, 4H),3,75 (m, 1H),3,20 (s, 3H), 2,62 (s, 3H), 2,31 (s, 3H), 1,59 (d, J = 7,2 Hz, 3H)	398
183	(±)-N-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-1-(1-metoxipropan-2-il)-2-metil-1H-indolo-3-carboxamida	(400 MHz, CD ₃ OD) δ 7,74 (m, 1H), 7,57 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 7,15 (m, 2H), 6,14 (s,1H), 4,86 (m, 1H), 4,55(s, 2H), 4,02 (m, 1H),3,77 (m, 1H),3,22 (s, 3H), 2,65 (s, 3H), 2,43 (s, 3H), 2,26 (s, 3H), 1,62 (d, J = 7,2 Hz, 3H)	382
204	(±)-N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-1-(1-metoxipropan-2-il)-2-metil-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-3-carboxamida	(400 MHz, CDCl ₃) δ 13,23 (s, 1H), 8,16-8,17 (m, 1H), 8,11-8,13 (m, 1H), 7,57-7,60 (t, J = 5,2 Hz, 1H), 6,93-6,96 (m, 1H), 5,92 (s, 1H), 4,82-4,83 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 4,65-4,66 (d, J = 6,4 Hz, 2H), 3,89 (s, 3H), 3,81-3,85 (m, 1H), 3,22 (s, 3H), 2,79 (s, 3H), 2,17 (s, 3H), 1,64-1,66 (d, J = 8,0 Hz, 3H)	399
211	(±)-1-(1-ciclopropiletil)-N-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-3-carboxamida		379
212	(±)-1-(1-etoxipropan-2-il)-N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-3-carboxamida	(400 MHz, CDCl ₃) δ 8,173-8,189 (m, 1H), 8,13-8,153 (m, 1H), 7,563(s, 1H), 6,977-7,008 (m, 1H), 5,938 (s, 1H), 4,652-4,667 (d, 2H), 4,177(s, 1H), 3,309-3,454 (m, 2H), 3,94-3,98(m, 1H), 2,806 (s, 3H), 2,212 (s, 3H), 1,665-1,682 (d, 3H), 1,044 (t, 3H)	413
235	(±)-N-((4-etoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-1-(1-metoxipropan-2-il)-2-metil-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-3-carboxamida	(400 MHz, CDCl ₃) δ 12,5 (s, 1H), 8,11-8,18 (m, 2H), 7,60 (s, 1H), 6,95-6,98 (m, 1H), 5,90 (s, 1H), 5,96 (s, 1H), 4,83 (s, 1H), 4,10-4,21 (m, 3H), 3,82-3,83 (m, 1H), 3,23 (s, 3H), 3,79 (s, 3H), 2,15 (s, 3H), 1,65-1,66 (d, J = 6,8 Hz, 6H), 1,44-1,47 (t, J = 7,2 Hz, 3H).	413
241	N-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-1-(3-metoxibutan-2-il)-2-metil-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-3-carboxamida	(400 MHz, CD ₃ OD): δ 8,67-8,65 (d, 1H), 8,45-8,44 (d, 1H), 7,59-7,55(m, 1H), 6,70 (s, 1H), 4,79 (s, 1H), 4,61 (s, 2H), 4,07 (s, 1H), 3,32 (s, 3H), 2,75(s, 3H), 2,56 (s, 3H), 2,42(s, 3H), 1,68-1,66(d, 3H), 1,16-1,15(d, 3H).	397
280	(±)-N-((6-etil-4-metoxi-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-1-(1-metoxipropan-2-il)-2-metil-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-3-carboxamida	¹ H RMN (400 MHz, CD ₃ OD) δ 8,25-8,29 (m, 2H). δ 7,28-7,31 (m, 1H). 6,89 (s, 1H), 4,93-4,95 (a, 1H), 4,58 (s, 2H), 4,2-4,25 (m, 1H),4,13 (s, 3H), 3,77-3,81 (m, 1H), 3,24 (s, 3H), 2,79-2,84 (c, 1H), 2,72 (s, 3H), 1,66-1,68 (d, J = 7,2 Hz, 3H) 1,32-1,36 (t, 3H)	413
288	(R o S)-N-((4-Metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1-(1-(tetrahidro-2H-piran-4-il)etil)-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-3-carboxamida	(400 MHz, d ₆ -DMSO) δ 11,57 - 11,65 (m, 1H), 8,18 - 8,23 (m, 1H), 8,07 - 8,12 (m, 1H), 7,83 - 7,91 (m, 1H), 7,07 - 7,15 (m, 1H), 6,15 s (s,1 H), 4,31 (d, J = 4,46 Hz, 1H), 4,04 - 4,20 (m, 1H), 3,88 - 3,97 (m, 1H), 3,84 (s, 3H), 3,59 - 3,70 (m, 1H), 2,97 - 3,10 (m, 1H), 2,79 - 2,93 (m, 1H), 2,67 (s a, 3H), 2,20 (s, 3H), 1,78 -1,88 (m, 1H), 1,53 - 1,68 (m, 3H), 1,28 - 1,41 (m, 2H), 0,97 -1,13 (m, 2H), 0,56 - 0,68 (m, 1H)	439
306	(R o S)-N-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1-(1-(tetrahidro-2H-piran-4-il)etil)-1H-indolo-3-carboxamida	(400 MHz, DMSO-d ₆) δ = 11,73 - 11,56 (m, 1 H), 8,19 (d, J = 3,1 Hz, 1H), 8,06 (dd, J = 1,4, 7,9 Hz, 1 H), 7,82 (s a, 1 H), 7,10 (dd, J = 4,7, 7,8 Hz, 1 H), 5,91 (s, 1 H), 4,30 (s a, 2 H), 4,19 - 4,02 (m, 1 H), 3,90 (d, J = 8,5 Hz, 1 H), 3,63 (d, J = 7,8 Hz, 1 H), 3,29 (s, 1 H), 3,06 (s, 1 H), 2,92 - 2,74 (m, 1 H), 2,64 (s a, 3 H), 2,25 (s, 3 H), 2,11 (s, 3 H), 1,80 (s a, 1 H), 1,59 (s a, 3 H), 1,41-1,24 (m, 1H), 1,09 (s, 2 H), 0,67 - 0,52 (m, 1 H)	423

277	(±)-1-(3-metoxi-3-metilbutan-2-il)-N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1H-indolo-3-carboxamida	(400 MHz, DMSO-d ₆) δ = 12,01 - 11,82 (m, 1 H), 7,91 - 7,82 (m, 2 H), 7,71 - 7,64 (m, 1 H), 7,06 - 6,96 (m, 2 H), 6,25 (s, 1H), 4,43 (c, J = 7,1 Hz, 1 H), 4,33 (s a, 2 H), 3,86 (s, 3 H), 3,14 - 3,09 (m, 3 H), 2,61 (s, 3 H), 2,23 (s, 3 H), 1,58 - 1,52 (m, 3 H), 1,27 (s, 3 H), 0,88 (s, 3 H)	426
275	(±)-N-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-1-(3-metoxipentan-2-il)-2-metil-1H-indolo-3-carboxamida		410
294	(±)-N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-1-(3-metoxibutan-2-il)-2-metil-1H-indolo-3-carboxamida	(CDCl ₃ , 400 M Hz) δ 7,85 (t, J = 6,4 Hz, 1H), 7,45 (s, 2H), 7,08-7,03 (m, 2H), 5,93 (s, 1H), 4,71-4,61 (m, 2H), 4,36 (s, 1H), 3,90 (s, 4H), 2,95 (s, 3H), 2,75 (s, 3H), 2,17 (s, 3H), 1,57 (d, J = 7,2 Hz, 3H), 1,23 (d, J = 6,0 Hz, 3H)	412
290	(±)-1-(3-etoxibutan-2-il)-N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1H-indolo-3-carboxamida	(400 MHz, DMSO-d ₆) δ = 11,60 (s a, 1 H), 7,72 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 7,67 (d, J = 5,1 Hz, 2 H), 7,09 - 6,98 (m, 2 H), 6,14 (s, 1 H), 4,41 - 4,35 (m, 1 H), 4,32 (d, J = 4,9 Hz, 2 H), 4,03 - 3,93 (m, 1 H), 3,83 (s, 3 H), 3,25 (d, J = 9,4 Hz, 1 H), 2,82 - 2,72 (m, 1 H), 2,62 (s a, 3 H), 2,19 (s, 3 H), 1,52 (d, J = 7,1 Hz, 3 H), 1,15 (d, J = 6,0 Hz, 3 H), 0,68 (t, J = 6,9 Hz, 3 H)	426
293	N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il) metil)-1-(3-metoxipentan-2-il)-2-metil-1H-pirroló [2, 3-b] piridin-3-carboxamida	(400 MHz, CDCl ₃): δ 8,19-8,13 (m, 2H), 7,57-7,55 (t, 1H), 6,99-6,96 (m, 1H), 5,94 (s, 1H), 4,67-4,65 (m, 2H), 4,40 (m, 1H), 4,16 (m, 1H), 3,16 (s, 3H), 2,80 (s, 3H), 2,77 (s, 3H), 2,20 (s, 3H), 1,87-1,81 (m, 1H), 1,67-1,65 (m, 3H), 1,53-1,45 (m, 3H), 1,02-0,99 (m, 3H)	427
299	N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-1-(3-metoxipentan-2-il)-2-metil-1H-indolo-3-carboxamida	(400 MHz, CDCl ₃) δ 7,87-7,86 (d, 1H), 7,52-7,45 (m, 2H), 7,10-7,02 (m, 2H), 4,72-4,64 (dd, 2H), 4,45-4,42 (s 1H), 3,9 (s, 3H), 3,73 (s, 1H), 2,8-2,7 (d, 6H), 2,17 (s, 3H), 1,80-1,75 (m, 1H), 1,58 (s, 3H), 1,25 (m, 1H), 1,03-0,99 (t, 3H)	425

Ejemplo de referencia 11. Síntesis de 1-(1-(1,4-dioxan-2-il)etil)-2-metil-1H-indolo-3-carboxilato de metilo. El compuesto del título se usó como un material de partida de carboxilato de alquilo alternativo en la Etapa 3 del Ejemplo 1.

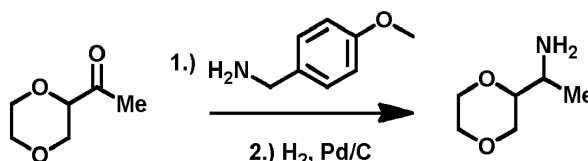
5

Etapa 1: 1-(1,4-dioxan-2-il)etanona:



10 A una solución de peróxido benzoico (20 g, 141 mmol) en 200 ml de 1,4-dioxano a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno se le añadió biacetilo (24,3 g, 282 mmol). Después de la adición, la mezcla se calentó a reflujo y se agitó durante 24 horas. La mezcla de reacción se enfrió a 0 °C. El pH se ajustó a aproximadamente 9 añadiendo progresivamente hidróxido sódico 2 N por debajo de 0 °C, se extrajo con 2-metoxi-2-metilpropano (10 ml x 3), y se concentró para dar 1-(1,4-dioxan-2-il)etanona (13 g, 36 %) en forma de un aceite de color amarillo que se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación.

Etapa 2: 1-(1,4-dioxan-2-il)etanamina:



20 A una solución de 1-(1,4-dioxan-2-il)etanona (12 g, 92,2 mmol) en 1,2-dicloroetano (100 ml) se le añadió (4-metoxifenil)metanamina (25 g, 184,4 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se dejó en agitación durante 3 horas, y después se añadió triacetoxiborohidruro sódico (39 g, 184,4 mmol). La mezcla resultante se dejó en agitación durante 48 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se inactivó añadiendo agua y se extrajo con diclorometano (100 ml x 3). La fase orgánica combinada se secó mediante sulfato sódico anhidro y después se filtró. El filtrado se concentró y se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (eluato: diclorometano/metanol 100:1 → 50:1 → 20:1) para dar 1-(1,4-dioxan-2-il)-N-(4-metoxibencil)etanamina (16,4 g,

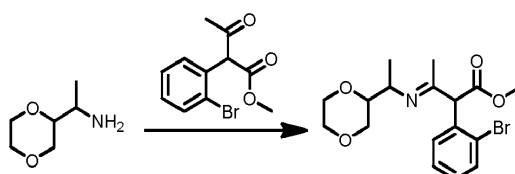
71 %) en forma de un sólido de color amarillo. LCMS ($M + H^+$) m/z : calc. 251,15, observado 251,9. A una solución de 1-(1,4-dioxan-2-il)-N-(4-metoxibencil)etanamina (5 g, 19,9 mmol) en metanol anhidro (100 ml) se le añadió paladio al 10 % sobre carbono (240 mg, 2 mmol), después se purgó con hidrógeno (30 psi (206,84 kPa)), y la mezcla se dejó en agitación durante una noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró, y el filtrado se concentró para proporcionar el compuesto del título (2,5 g, 96 %) en forma de un sólido de color pardo.

Los intermedios amina mostrados en la siguiente tabla se prepararon de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente usando los materiales de partida y modificaciones apropiadas.

Nombre	Estructura	m/z
3-(1-aminoetil)piperidin e-1-carboxilato de terc-butilo		228
(±)-1-(4,4-difluorociclohexil)etanamina		164
(±)-1-(1-(metilsulfonil)azetidín-3-il)etanamina		179
4-(4-(1-aminoetil)47yridín e-2-il)piperazín-1-carboxilato de (±)-terc-butilo		307

10

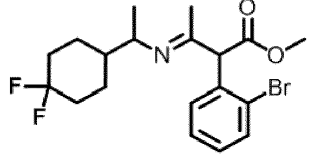
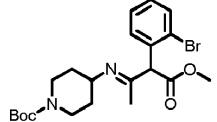
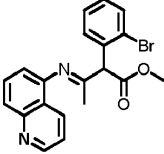
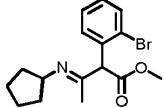
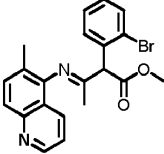
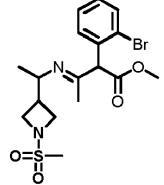
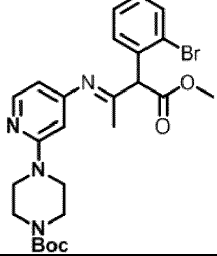
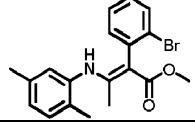
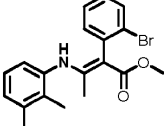
Etap 3: 3-((1-(1,4-dioxan-2-il)etil)imino)-2-(2-bromofenil)butanoato de (E)-metilo:

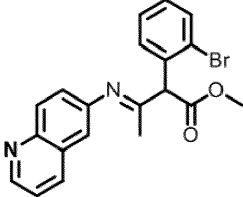


A una solución de 1-(1,4-dioxan-2-il)etanamina (2,5 g, 19 mmol) en metanol (100 ml) se le añadieron 2-(2-bromofenil)-3-oxobutanoato de metilo (5,4 g, 20 mmol) y ácido acético (1,8 g, 30 mmol). El sistema de reacción resultante se calentó a reflujo y se dejó agitar durante una noche. La mezcla de reacción se concentró y se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (eluida: diclorometano/metanol, 50:1 → 20:1 → 5:1) el compuesto del título (1 g, 14 %) en forma de un sólido de color pardo. LCMS ($M + H^+$) m/z : calc. 383,07, observado 384,9.

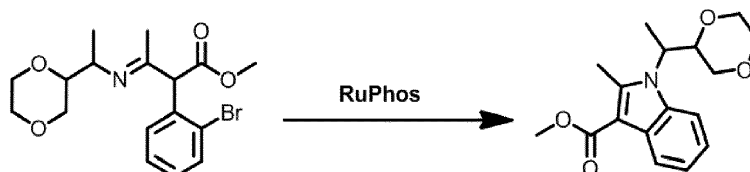
20 Los intermedios imino-bromo mostrados en la siguiente tabla se prepararon de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente usando los materiales de partida (por ejemplo, una de las aminas expuestas en la tabla en la Etapa 2 de este ejemplo) y modificaciones apropiadas.

Nombre	Estructura	m/z
3-(1-((3-(2-bromofenil)-4-metoxi-4-oxobutan-2-ilideno)amino)etil)piperidin-1-carboxilato de (E)-terc-butilo		482

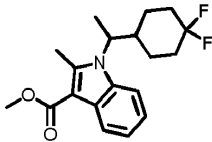
2-(2-bromofenil)-3-((1-(4,4-difluorociclohexil)etil)imino)butanoato de (±)-(E)-metilo		417
4-((3-(2-bromofenil)-4-metoxi-4-oxobutan-2-ilideno)amino)piperidin-1-carboxilato de (E)-terc-butilo		454
2-(2-bromofenil)-3-(quinolin-5-ilamino)but-2-enoato de (Z)-metilo		398
2-(2-bromofenil)-3-(ciclopentilimino)butanoato de (E)-metilo		339
2-(2-bromofenil)-3-((6-metilquinolin-5-il)imino)butanoato de (E)-metilo		412
2-(2-bromofenil)-3-((1-(1-(metilsulfonyl)azetidin-3-il)etil)imino)butanoato de (±)-(E)-metilo		432
4-(4-((3-(2-bromofenil)-4-metoxi-4-oxobutan-2-ilideno)amino)piridin-2-il)piperazin-1-carboxilato de (±)-(E)-terc-butilo		559
2-(2-bromofenil)-3-((2,5-dimetilfenil)amino)but-2-enoato de (E)-metilo		375
2-(2-bromofenil)-3-((2,3-dimetilfenil)amino)but-2-enoato de (E)-metilo		375

2-(2-bromofenil)-3-(quinolin-6-ilimino)butanoato de (E)-metilo		398
--	---	-----

Etapas 4: 1-(1-(1,4-Dioxan-2-il)etil)-2-metil-1H-indolo-3-carboxilato de metilo:



- 5 A una solución de 3-((1-(1,4-dioxan-2-il)etil)imino)-2-(2-bromofenil)butanoato de (E)-metilo (400 mg, 1,1 mmol) en dioxano (3 ml) se le añadieron Cloro[2-(dodiclohexilfosfino)-3,6-dimetoxi-2',4',6'-trisisopropilbifenil][2-(2-aminoetil)fenil]Pd(II) (160 mg, 0,2 mmol), 2-Diciclohexilfosfino-2',6'-diisopropoxibifenilo (93 mg, 0,2 mmol) y terc-butóxido sódico (192 mg, 2 mmol). La mezcla de reacción resultante se calentó a 120 °C con agitación durante 30 min en un microondas. La mezcla de reacción se inactivó añadiendo agua y se extrajo con acetato de etilo (25 ml x 3). La fase orgánica combinada se secó mediante sulfato sódico anhidro y después se filtró. El filtrado se concentró y se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (eluida: éter de petróleo/éster acético, 10:1 → 5:1 → 2:1) para proporcionar el compuesto del título (282 mg, 89 %) en forma de un sólido de color amarillo. LCMS (M + H⁺) m/z: calc. 303,15, observado 303,9.
- 10
- 15 El compuesto mostrado en la siguiente tabla se preparó de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente usando los materiales de partida (por ejemplo, uno de los intermedios imino-bromo mostrados en la tabla en la Etapa 3 de este ejemplo) y modificaciones apropiadas.

Nombre	Estructura	m/z
1-(1-(4,4-difluorociclohexil)etil)-2-metil-1H-indolo-3-carboxilato de (±)-metilo		336

- 20 Estos carboxilatos de alquilo se usaron también como material de partida en la Etapa 3 del Ejemplo 1 en la síntesis de ciertos compuestos de la invención.

Ejemplo 12. Separación quiral del Compuesto 219 para proporcionar los Compuestos 223 y 224. Se sometió N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-1-(1-metoxipropan-2-il)-2-metil-1H-indolo-3-carboxamida

- 25 (200 mg) (Compuesto 219) a cromatografía quiral a través de cromatografía de fluidos supercríticos (SFC) (A:C₂H₅OH, B:NH₃·H₂O. A:B = 55:45, columna AD) para proporcionar los enantiómeros separados 223 (Pico 1) y 224 (Pico 2) (60 mg cada uno) LCMS 398 (M+1)⁺ ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7,69 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 7,53 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 7,12 (m, 2H), 6,26 (s, 1H), 4,80 (m, 1H), 4,52 (s, 2H), 3,99 (m, 4H), 3,75 (m, 1H), 3,20 (s, 3H), 2,62 (s, 3H), 2,31 (s, 3H), 1,59 (d, J = 7,2 Hz, 3H). La rotación óptica de cada enantiómero no se determinó.

30

Los compuestos mostrados en la siguiente tabla se prepararon de acuerdo con el procedimiento de cromatografía quiral general descrito anteriormente. La rotación óptica de los enantiómeros separados no se determinó, pero se indica el pico de elución ("Pico 1" o "Pico 2"). Las estructuras de cada compuesto se muestran en la figura 1.

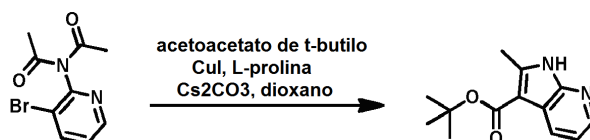
Compuesto	Nombre	¹ H RMN	m/z
217	(R o S)-N-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-1-(1-metoxipropan-2-il)-2-metil-1H-indolo-3-carboxamida-PICO 1	(400 MHz, CD ₃ OD) δ 7,74 (m, 1H), 7,57 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 7,15 (m, 2H), 6,14 (s, 1H), 4,86 (m, 1H), 4,55 (s, 2H), 4,02 (m, 1H), 3,77 (m, 1H), 3,22 (s, 3H), 2,65 (s, 3H), 2,43 (s, 3H), 2,26 (s, 3H), 1,62 (d, J = 7,2 Hz, 3H)	382
218	(R o S)-N-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-1-(1-metoxipropan-2-il)-2-metil-1H-indolo-3-carboxamida-PICO 2	(400 MHz, CD ₃ OD) δ 7,74 (m, 1H), 7,57 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 7,15 (m, 2H), 6,14 (s, 1H), 4,86 (m, 1H), 4,55 (s, 2H), 4,02 (m, 1H), 3,77 (m, 1H), 3,22 (s, 3H), 2,65 (s, 3H), 2,43 (s, 3H), 2,26 (s, 3H), 1,62 (d, J = 7,2 Hz, 3H)	382

252	(R o S)-(±)-1-(1-ciclopropiletil)-N-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-3-carboxamida PICO 1	RMN (400 MHz, CDCl ₃): δ 8,32-8,34 (d, 1H), 8,18-8,2 (d, 1H), 7,27-7,30(m, 1H), 6,70 (s, 1H), 4,47 (s, 2H), 3,94-3,95 (d, 1H), 2,61 (s, 3H), 2,43 (s, 3H), 2,29-2,30 (s, 3H), 1,57-1,59 (d, 3H), 0,63-0,64 (t, 1H), 0,27-0,64 (m, 2H), 0,02-0,04 (t, 1H)	379
253	(R o S)-(±)-1-(1-ciclopropiletil)-N-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-3-carboxamida PICO 2	RMN (400 MHz, CDCl ₃): δ 8,32-8,34 (d, 1H), 8,18-8,2 (d, 1H), 7,27-7,30(m, 1H), 6,70 (s, 1H), 4,47 (s, 2H), 3,94-3,95 (d, 1H), 2,61 (s, 3H), 2,43 (s, 3H), 2,29-2,30 (s, 3H), 1,57-1,59 (d, 3H), 0,63-0,64 (t, 1H), 0,27-0,64 (m, 2H), 0,02-0,04 (t, 1H)	379
256	(R o S)-N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-1-(1-metoxipropan-2-il)-2-metil-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-3-carboxamida PICO 1	(400 MHz, CDCl ₃) δ 13,23 (s, 1H), 8,16-8,17 (m, 1H), 8,11-8,13 (m, 1H), 7,57-7,60 (t, J = 5,2 Hz, 1H), 6,93-6,96 (m, 1H), 5,92 (s, 1H), 4,82-4,83 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 4,65-4,66 (d, J = 6,4 Hz, 2H), 3,89 (s, 3H), 3,81-3,85 (m, 1H), 3,22 (s, 3H), 2,79 (s, 3H), 2,17 (s, 3H), 1,64-1,66 (d, J = 8,0 Hz, 3H)	399
257	(R o S)-N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-1-(1-metoxipropan-2-il)-2-metil-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-3-carboxamida PICO 2	(400 MHz, CDCl ₃) δ 13,23 (s, 1H), 8,16-8,17 (m, 1H), 8,11-8,13 (m, 1H), 7,57-7,60 (t, J = 5,2 Hz, 1H), 6,93-6,96 (m, 1H), 5,92 (s, 1H), 4,82-4,83 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 4,65-4,66 (d, J = 6,4 Hz, 2H), 3,89 (s, 3H), 3,81-3,85 (m, 1H), 3,22 (s, 3H), 2,79 (s, 3H), 2,17 (s, 3H), 1,64-1,66 (d, J = 8,0 Hz, 3H)	399
307	Trans-(R o S, R o S)-N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-1-(3-metoxibutan-2-il)-2-metil-1H-indolo-3-carboxamida PICO 1	(CDCl ₃ , 400 M Hz) δ 7,85 (t, J = 6,4 Hz, 1H), 7,45 (s, 2H), 7,08-7,03 (m, 2H), 5,93 (s, 1H), 4,71-4,61 (m, 2H), 4,36 (s, 1H), 3,90 (s, 4H), 2,95 (s, 3H), 2,75 (s, 3H), 2,17 (s, 3H), 1,57 (d, J = 7,2 Hz, 3H), 1,23 (d, J = 6,0 Hz, 3H)	412
308	Trans-(R o S, R o S)-N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-1-(3-metoxibutan-2-il)-2-metil-1H-indolo-3-carboxamida PICO 2	(CDCl ₃ , 400 M Hz) δ 7,85 (t, J = 6,4 Hz, 1H), 7,45 (s, 2H), 7,08-7,03 (m, 2H), 5,93 (s, 1H), 4,71-4,61 (m, 2H), 4,36 (s, 1H), 3,90 (s, 4H), 2,95 (s, 3H), 2,75 (s, 3H), 2,17 (s, 3H), 1,57 (d, J = 7,2 Hz, 3H), 1,23 (d, J = 6,0 Hz, 3H)	412

Ejemplo 1. Síntesis de 1-(2,3-dihidro-1H-inden-1-il)-2-metil-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-3-carboxilato de terc-butilo. El compuesto del título como material de partida en la Etapa 3 del Ejemplo 36 en la síntesis de ciertos compuestos de la invención.

5

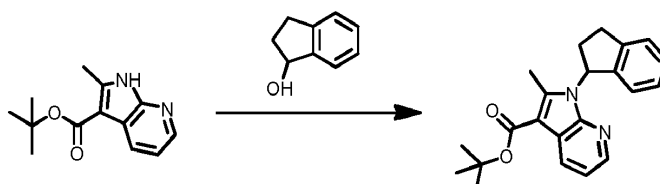
2-Metil-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-3-carboxilato de terc-butilo:



10 En un matraz de fondo redondo de 500 ml que contiene N-acetil-N-(3-bromopiridin-2-il)acetamida (14,815 g, 57,6 mmol), se añadieron yoduro de cobre (I) (1,098 g, 5,76 mmol), L-prolina (1,327 g, 11,53 mmol), carbonato de cesio (28,2 g, 86 mmol), después acetoacetato de t-butilo (11,47 ml, 69,2 mmol) y dioxano (100 ml). La reacción se evacuó/purgó 3 veces con N₂, después se equipó con un tapón y una entrada de N₂ y se calentó durante una noche a 70 °C. Los sólidos inorgánicos se retiraron por filtración sobre celite y la torta se lavó con 100 ml de EtOAc. Esta

15 solución se concentró y el residuo se repartió entre 250 ml de salmuera y 250 ml de EtOAc. La capa ac. se extrajo adicionalmente con EtOAc (2 x 250 ml) y la capa orgánica combinada se secó sobre Na₂SO₄, se filtró, se concentró y se purificó por CC usando 1:1 de EtOAc:Hex como eluyente para proporcionar (2,7 g, 20,2 %) de 2-metil-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-3-carboxilato de terc-butilo. LRMS (M + H⁺) m/z: calc. 233,28; observado 233,1.

20 1-(2,3-Dihidro-1H-inden-1-il)-2-metil-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-3-carboxilato de terc-butilo:



Una solución de terc-butil 2-metil-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-3-carboxilato de etilo (100 mg, 0,74 mmol), 2,3-dihidro-1H-

inden-1-ol (176 mg, 0,74 mmol), PPh_3 (195 mg, 1,49 mmol) se agitó en THF seco (10 ml) a 0 °C en una atmósfera de nitrógeno. A esta mezcla se le añadió gota a gota DIAD (150 mg, 1,48 mmol) durante un periodo de 5 min, y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. La mezcla se lavó con salmuera, se secó y se concentró para proporcionar el producto en bruto. El producto en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (éter de petróleo/acetato de etilo = 5:1) para proporcionar el 1-(2,3-dihidro-1H-inden-1-il)-2-metil-1H-pirrol[2,3-b]piridin-3-carboxilato de terc-butilo (150 mg, 60 %).

El compuesto mostrado en la siguiente tabla se preparó de acuerdo con el procedimiento general descrito anteriormente usando los materiales de partida apropiados y modificaciones apropiadas.

10

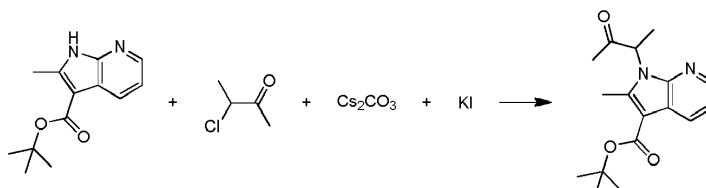
Nombre	Estructura	m/z
1-(1-ciclopropilil)-2-metil-1H-pirrol[2,3-b]piridin-3-carboxilato de (±)-terc-butilo		301

Cada uno de los carboxilatos de alquilo anteriores se usó como material de partida en la Etapa 3 del Ejemplo 1 en la síntesis de ciertos compuestos de la invención.

15 **Ejemplo 13. Síntesis de diastereómeros aislados de N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-1-((2R o 2S, 3R o 3S)-3-metoxibutan-2-il)-2-metil-1H-pirrol[2,3-b]piridin-3-carboxamida (Compuestos 261, 266, 267 y 302).**

20 **Etapa 1: 2-Metil-1-(3-oxobutan-2-il)-1H-pirrol[2,3-b]piridin-3-carboxilato de terc-butilo:**

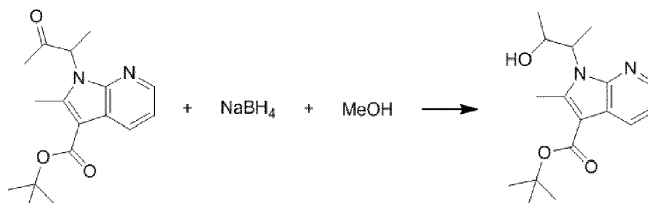
20



A una solución de 2-metil-1H-pirrol[2,3-b]piridin-3-carboxilato de terc-butilo (5,0 g, 21,53 mmol) en CH_3CN (50 ml) se le añadieron Cs_2CO_3 (21,0 g, 64,58 mmol), yoduro potásico (3,57 g, 21,53 mmol). La mezcla se agitó a 27 °C durante 30 minutos. Después, se añadió 3-clorobutan-2-ona (2,75 g, 25,83 mmol) y la mezcla se agitó a 70 °C durante 12 horas. La mezcla se filtró y el filtrado se concentró. El residuo se purificó por columna (eluato: éter de petróleo: acetato de etilo = 50:1) para dar 2-metil-1-(3-oxobutan-2-il)-1H-pirrol[2,3-b]piridin-3-carboxilato de terc-butilo en forma de un aceite de color amarillo-verde (3,23 g, rendimiento del 50 %) LCMS ($\text{M} + \text{H}^+$) m/z: calc. 303,37; observado 302,9, 1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 8,32-8,30 (m, 1H), 8,25-8,23 (m, 1H), 7,17-7,14 (m, 1H), 5,50-5,44 (m, 1H), 2,71 (s, 3H), 1,96 (s, 3H), 1,65-1,67 (d, 3H), 1,64 (s, 9H).

30

30 **Etapa 2: 1-(3-Hidroxibutan-2-il)-2-metil-1H-pirrol[2,3-b]piridin-3-carboxilato de terc-butilo:**

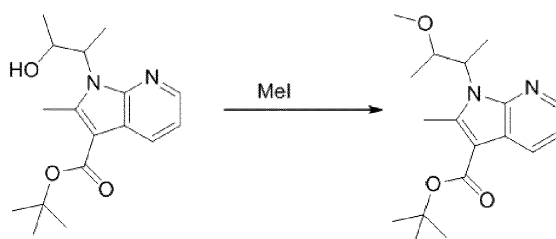


A la solución de 2-metil-1-(3-oxobutan-2-il)-1H-pirrol[2,3-b]piridin-3-carboxilato de terc-butilo (3,1 g, 10,25 mmol) en metanol (30 ml) se le añadió borohidruro sódico (0,30 g, 8,2 mmol) a 0 °C. Después de 30 minutos, se añadió otro lote de borohidruro sódico (0,30 g, 8,2 mmol) a 0 °C. Después de la finalización de la reacción aproximadamente 2 h más tarde, se añadió gota a gota agua (30 ml) muy cuidadosamente para interrumpir la reacción. La mezcla se extrajo con CH_2Cl_2 . La extracción se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró y se concentró al vacío para dar 1-(3-hidroxibutan-2-il)-2-metil-1H-pirrol[2,3-b]piridin-3-carboxilato de terc-butilo en forma de un sólido de color amarillo. (3,0 g, rendimiento del 96 %) LCMS ($\text{M} + \text{H}^+$) m/z: calc. 305,38; observado 304,9, 1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 8,31-8,29 (m, 1H), 8,13-8,12 (m, 1H), 7,11-7,07 (m, 1H), 4,46-4,43 (m, 1H), 4,12 (m, 1H), 2,73 (s, 3H), 1,58 (s, 9H), 1,51-1,49 (d, 3H), 0,92-0,91 (d, 3H).

40

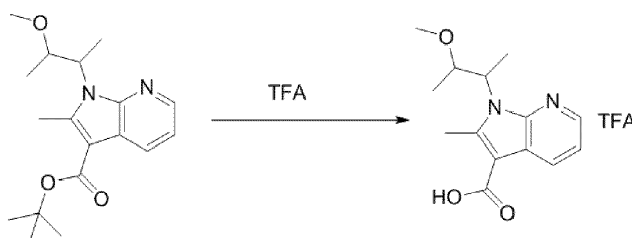
45 **Etapa 3: 1-(3-Metoxibutan-2-il)-2-metil-1H-pirrol[2,3-b]piridin-3-carboxilato de terc-butilo:**

45



A THF seco (20 ml) se le añadieron NaH (al 60 % en aceite mineral, 2,37 g, 59,14 mmol). Después, la mezcla se agitó a 27 °C durante 20 minutos, y después se añadió 1-(3-hidroxibutan-2-il)-2-metil-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-3-carboxilato de terc-butilo (3,0 g, 9,86 mmol). La mezcla se agitó a 27 °C durante 1 hora, después se añadió CH₃I (13,99 g, 98,6 mmol). La mezcla se agitó durante 12 horas a 27 °C y después se enfrió a 0 °C. Se añadió NH₄Cl sat. y se extrajo con CH₂Cl₂. La extracción se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró para dar 1-(3-metoxibutan-2-il)-2-metil-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-3-carboxilato de terc-butilo en forma de un aceite de color amarillo. (3,2 g, rendimiento del 100 %) LCMS (M + H⁺) m/z: calc. 319,41; observado 318,9.

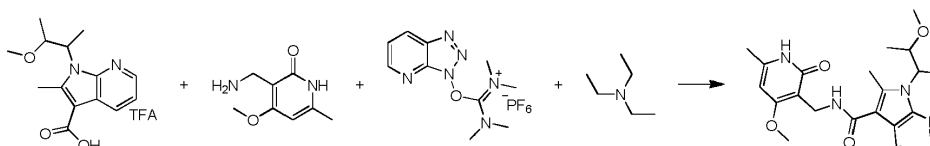
10 Etapa 4: Ácido 1-(3-metoxibutan-2-il)-2-metil-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-3-carboxílico:



A la solución enfriada previamente de 1-(3-metoxibutan-2-il)-2-metil-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-3-carboxilato de terc-butilo (3,0 g, 9,42 mmol) en CH₂Cl₂ (20 ml) se le añadió gota a gota ácido trifluoroacético (20 ml). La solución se agitó a 27 °C durante 1,5 horas. El disolvente se retiró al vacío a 27 °C. El residuo se usó en la siguiente etapa sin purificar. LCMS (M + H⁺) m/z: calc. 263,30; observado 262,9.

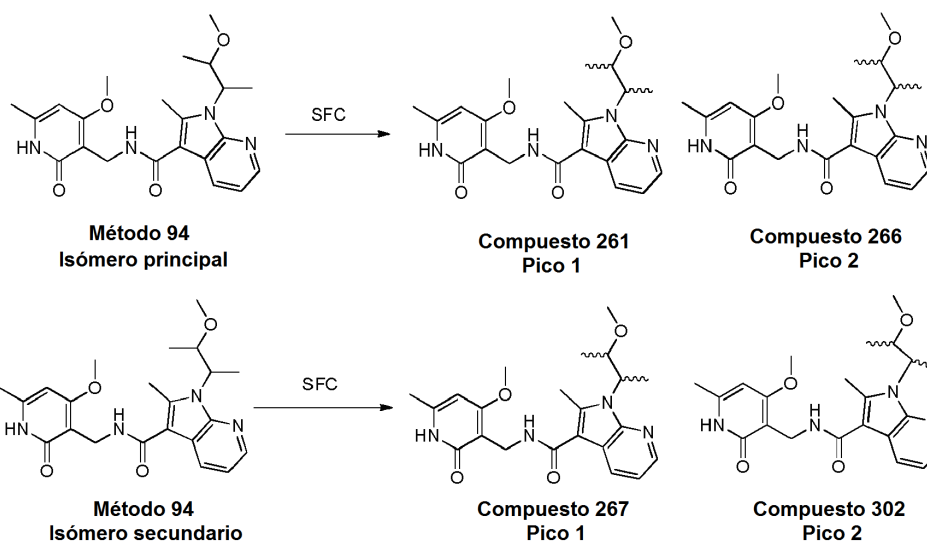
Etapa 5: N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-1-(3-metoxibutan-2-il)-2-metil-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-3-carboxamida:

20



A una solución de ácido 1-(3-metoxibutan-2-il)-2-metil-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-3-carboxílico (2,4 g, 9,15 mmol) en DMF (30 ml) se le añadieron TEA (4,2 g, 41,50 mmol), clorhidrato de 3-(aminometil)-4-metoxi-6-metilpiridin-2(1H)-ona (2,1 g, 12,81 mmol). Después de agitarse durante 10 minutos a 27 °C, la mezcla se enfrió y se añadió HATU (5,56 g, 14,64 mmol). La mezcla se agitó a 27 °C durante 72 horas y quedó el 30 % del M.P. Después, la mezcla se calentó a 80 °C durante 5 horas. La solución se diluyó con salmuera (100 ml) y se extrajo con CH₂Cl₂ (100 ml x 3). Las extracciones se combinaron y se secaron sobre Na₂SO₄. El disolvente se evaporó al vacío y el residuo se purificó por columna ultrarrápida (eluyente: diclorometano:metanol = 95:5) para dar N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-1-(3-metoxibutan-2-il)-2-metil-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-3-carboxamida. (3,6 g, rendimiento del 95 %)

Etapa 6: Separación de N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-1-(3-metoxibutan-2-il)-2-metil-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-3-carboxamida: Isómeros (Compuestos 261, 266, 267 y 302):



La mezcla de isómeros de la Etapa 5, N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-1-(3-metoxibutan-2-il)-2-metil-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-3-carboxamida se purificó por HPLC prep. (Condición: Columna: SHIMADZU LC-8A, 250 x 50 mm x 10 um; Fase móvil A: agua con ácido fórmico al 0,2 %; Fase móvil B: MeCN; temperatura de la columna: 30 °C; Gradiente: B en A al 10~50 %) para dar un par isomérico principal (Compuesto 261 y Compuesto 266 combinados) (1,0 g, pureza del 98,8 %) y un par isomérico secundario (Compuesto 267 y Compuesto 302 combinados) (180 mg, pureza del 63 %). Los pares isoméricos resultantes se separaron individualmente por SFC (Condición: Columna: Chiralpak AD 250 x 30 mm x 5 um; Fase móvil A: CO₂ supercrítico; Fase móvil B: IPA + NH₃·H₂O; Gradiente: B/A: 75:25) para dar los siguientes compuestos únicos individuales:

Compuesto 261, N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-1-((2R o 2S, 3R o 3S)-3-metoxibutan-2-il)-2-metil-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-3-carboxamida (Par isomérico principal; Pico 1): ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 8,173-8,157 (m, 1H), 8,140-8,116 (m, 1H), 7,582-7,555 (m, 1H), 6,968-6,936 (m, 1H), 5,927 (s, 1H), 4,707-4,609 (m, 2H), 4,348 (s, 1H), 3,892 (s, 3H), 2,869 (s, 3H), 2,788 (s, 3H), 2,173 (s, 3H), 1,644-1,627 (d, 3H), 1,263-1,249 (d, 3H).

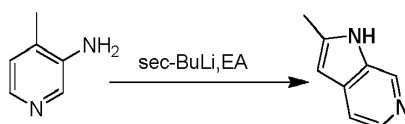
Compuesto 266, N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-1-((2R o 2S, 3R o 3S)-3-metoxibutan-2-il)-2-metil-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-3-carboxamida (Par isomérico principal; Pico 2): ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 8,179-8,163 (m, 1H), 8,143-8,120 (m, 1H), 7,558-7,531 (m, 1H), 6,986-6,954 (m, 1H), 5,931 (s, 1H), 4,702-4,605 (m, 2H), 3,897 (s, 3H), 2,892 (s, 3H), 2,789 (s, 3H), 2,189 (s, 3H), 1,647-1,629 (d, 3H), 1,267-1,252 (d, 3H).

Compuesto 267, N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-1-((2R o 2S, 3R o 3S)-3-metoxibutan-2-il)-2-metil-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-3-carboxamida (Par isomérico secundario; Pico 1): ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 8,174-8,162 (d, 1H), 8,111-8,094 (d, 1H), 7,551-7,526 (m, 1H), 6,993-6,961 (m, 1H), 5,935 (s, 1H), 4,683-4,579 (m, 2H), 3,887 (s, 3H), 3,442 (s, 3H), 2,753 (s, 3H), 2,194 (s, 3H), 1,695-1,678 (d, 3H), 0,781-0,768 (d, 3H).

Compuesto 302, N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-1-((2R o 2S, 3R o 3S)-3-metoxibutan-2-il)-2-metil-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-3-carboxamida (Par isomérico secundario; Pico 2): ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 8,177-8,166 (d, 1H), 8,122-8,104 (d, 1H), 7,587-7,562 (m, 1H), 6,984-6,952 (m, 1H), 5,933 (s, 1H), 4,698-4,591 (m, 2H), 4,426 (s, 2H), 3,983 (s, 3H), 3,448 (s, 3H), 2,764 (s, 3H), 2,180 (s, 3H), 1,701-1,684 (d, 3H), 0,786-0,772 (d, 3H).

Ejemplo 14. Síntesis de (±)-N-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1-(1-feniletil)-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-3-carboxamida

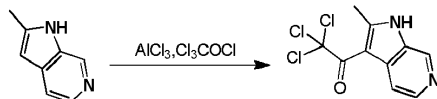
Etapa 1: 1-(3-metoxifenil)etanol:



A una solución agitada de 3-Amino-4-picolina (7 g, 64,8 mmol) en THF anhidro (200 ml) se le añadió gota a gota sec-BuLi (150 ml, 1,3 M en ciclohexano, 194 mmol) durante 20 minutos a -78 °C. La solución se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 3 horas. Se añadió gota a gota acetato de etilo (2,3 g, 25,9 mmol) en la reacción a -78 °C y la mezcla se agitó a la misma temperatura durante 2 horas. Se añadió gota a gota metanol (50 ml) en la reacción durante 10 minutos. La mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 1 hora. Se añadió NH₄Cl semisaturado (250 ml). La mezcla se extrajo con AE. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron y se concentraron para proporcionar el producto en bruto. El producto en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (éter de petróleo/acetato de etilo = 10:1) para proporcionar 2-metil-1H-pirrolo[2,3-

c]piridina (2,5 g, 73,5 %).

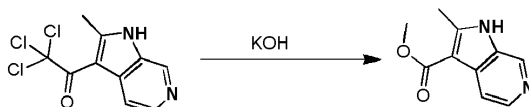
Etapas 2: 2,2,2-tricloro-1-(2-metil-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-3-il)etanona:



5

A una solución agitada de 2-metil-1H-pirrolo[2,3-c]piridina (2,5 g, 18,9 mmol) y cloruro de aluminio (5 g, 37,8 mmol) en DCM (100 ml), se le añadió gota a gota cloruro de tricloroacetilo (4,1 g, 22,7 mmol) en la reacción durante 0,5 horas a temperatura ambiente. Después de agitar 2 horas, la reacción se enfrió a 0 °C y se interrumpió con agua (100 ml). El precipitado resultante se aisló por filtración para proporcionar 2,2,2-tricloro-1-(2-metil-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-3-il)etanona que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. Se asumió un rendimiento del 100 %. (5,24 g).

Etapas 3: 2-Metil-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-3-carboxilato de metilo:

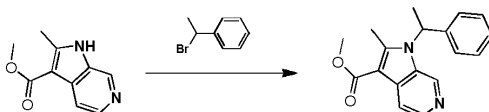


15

Una mezcla de 2,2,2-tricloro-1-(2-metil-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-3-il)etanona (5,24 g, 18,9 mmol) y KOH (1,2 g, 20,9 mmol) en MeOH (100 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. La mezcla de reacción se concentró para retirar MeOH, el residuo se repartió entre AE y agua. La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó y se concentró para proporcionar 2-metil-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-3-carboxilato de metilo (3 g, 83 %).

20

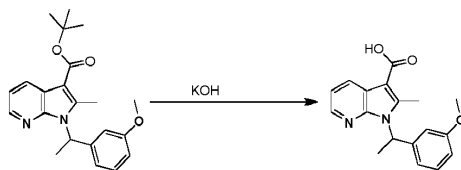
Etapas 4: Metil 2-metil-1-(1-feniletil)-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-3-carboxilato de metilo:



Una mezcla de 2-metil-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-3-carboxilato de metilo (550 mg, 2,89 mmol) y hidruro sódico (200 mg, 4,34 mmol) en N,N-dimetilformamida (3,0 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 0,5 hora, y después se añadió (1-bromoetil)benceno (589 mg, 3,18 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. La mezcla de reacción se vertió en NH₄Cl saturado y se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas se combinaron y se concentraron para dar un residuo. El residuo se purificó por cromatografía (éter de petróleo/acetato de etilo = 5:1) para dar 2-metil-1-(1-feniletil)-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-3-carboxilato de metilo (800 mg, 94 %).

30

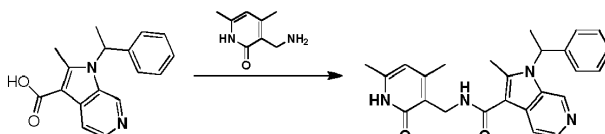
Etapas 5: Ácido 2-metil-1-(1-feniletil)-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-3-carboxílico:



A una mezcla de 2-metil-1-(1-feniletil)-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-3-carboxilato de metilo (800 mg, 2,72 mmol) y KOH (1,5 g, 27,2 mmol) en (15 ml) y agua (5 ml) se calentó a reflujo durante 2 horas. La mezcla se ajustó a un pH de 2 mediante HCl al 10 % y se extrajo con AE. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron y se concentraron para proporcionar el producto en bruto. El producto en bruto se usó en la siguiente etapa sin más purificación. Rendimiento del 100 %. (760 mg).

40

Etapas 6: (±)-N-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1-(1-feniletil)-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-3-carboxamida (Compuesto 203):



A una mezcla de ácido 2-metil-1-(1-feniletil)-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-3-carboxílico (280 mg, 1,0 mmol) se le añadieron HATU (456 mg, 1,2 mmol), TEA (1 g, 10 mmol) y 3-(aminometil)-4,6-dimetilpiridin-2(1H)-ona (182 mg, 1,2 mmol) en diclorometano anhidro (30 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. A la mezcla de reacción se le añadió agua (10 ml) y se extrajo con diclorometano (30 ml x 2). Las capas orgánicas se combinaron y se

concentraron para dar un residuo. El residuo se recrystalizó en MeCN para proporcionar el compuesto N-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1-(1-feniletíl)-1H-pirroló[2,3-c]piridin-3-carboxamida en forma de un sólido de color blanquecino (80 mg, 21,6 %). LRMS (M+H⁺) *m/z*: calc. 414,21; observado 414, ¹H RMN (400 MHz, Metanol-*d*4) δ : 8,84 (s, 1H), 8,16 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 8,03 (d, *J* = 6,8 Hz, 1H), 7,44-7,37 (m, 5H), 6,09 (s, 1H), 6,01-5,99 (m, 1H), 4,49 (s, 2H), 2,73 (s, 3H), 2,38 (s, 3H), 2,22 (s, 3H), 2,06 (d, *J* = 7,2 Hz, 3H).

Los compuestos mostrados en la siguiente tabla se prepararon de acuerdo con el procedimiento general descrito en este ejemplo usando los materiales de partida apropiados y modificaciones apropiadas. Las estructuras se muestran en la figura 1.

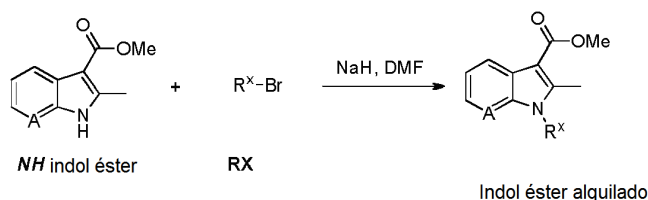
10

Compuesto	Nombre	RMN	m/z
240	(±)-N-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-1-(1-metoxipropan-2-il)-2-metil-1H-pirroló[2,3-c]piridin-3-carboxamida	(400 MHz, CLOROFORMO- <i>d</i>) δ ppm 1,63 (s a, 3 H) 2,21 (s, 3 H) 2,41 (s, 3 H) 2,73 (s, 3 H) 3,24 (s, 3 H) 3,72 (dd, <i>J</i> = 9,81, 5,40 Hz, 1 H) 3,80 - 3,88 (m, 1 H) 4,60 (d, <i>J</i> = 5,95 Hz, 2 H) 4,71 (dd, <i>J</i> = 13,23, 7,06 Hz, 1 H) 5,92 (s, 1 H) 7,31 (d, <i>J</i> = 5,73 Hz, 1 H) 7,38 (s a, 1 H) 8,26 (d, <i>J</i> = 5,29 Hz, 1 H) 9,09 (s a, 1 H) 11,07 (s a, 1 H)	383
243	(±)-N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1-(1-feniletíl)-1H-pirroló[2,3-c]piridin-3-carboxamida	(400 MHz, CLOROFORMO) δ ppm 1,62 (s a, 3 H) 2,26 (s, 3 H) 2,75 (s, 3 H) 3,25 (s, 3 H) 3,72 (dd, <i>J</i> = 9,81, 5,40 Hz, 1 H) 3,80 - 3,87 (m, 1 H) 3,90 (s, 3 H) 4,65 (d, <i>J</i> = 5,29 Hz, 2 H) 4,71 (dd, <i>J</i> = 13,78, 6,95 Hz, 1 H) 5,93 (s, 1 H) 7,32 (s a, 1 H) 7,50 (s a, 1 H) 8,25 (s a, 1 H) 9,11 (s a, 1 H)	431

Ejemplo 15. Procedimiento general para sintetizar otros compuestos de la invención

Procedimiento General A: Alquilación de indol

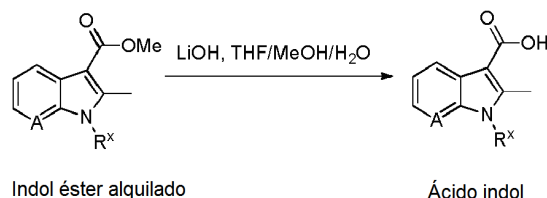
15



A una solución enfriada (0 °C) de NH indol éster (1 equivalente) en N,N-dimetilformamida (volumen para hacer la concentración 0,4 M) se le añadió hidruro sódico (60 % p/p, 1,1 equivalentes con respecto al indol). La mezcla resultante se agitó durante 15 minutos. Después, se añadió RX (2 equivalentes) y la reacción se dejó calentar a temperatura ambiente. La reacción se mantuvo a temperatura ambiente durante 12 horas. La mezcla de reacción se vertió en una solución saturada de cloruro de amonio (100 ml) con agitación. La mezcla se extrajo con acetato de etilo (200 ml x 2) y la fase orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró para dar el producto en bruto que se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, éter de petróleo/acetato de etilo = 20:1) para proporcionar el producto de éster de indol alquilado deseado.

20

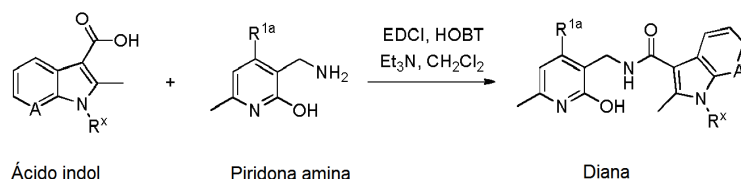
Procedimiento General B: Saponificación del éster de indol alquilado



A una solución de éster de indol alquilado (1 equivalente) en tetrahidrofurano:metanol:agua (2,5:5:1, volumen para hacer la concentración 0,05 M) se le añadió hidróxido de litio (4 equivalentes). La mezcla de reacción resultante se agitó a 60 °C durante 48 horas. La mezcla se concentró al vacío. Después, el residuo se diluyó con agua (40 ml) y se acidificó lentamente con hidrogenocloruro 1 N a pH = 4-5. La mezcla se extrajo con acetato de etilo (100 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron para dar ácido indol en bruto, que se usó en la etapa posterior sin purificación adicional.

35

Procedimiento General C: Formación de enlace amida



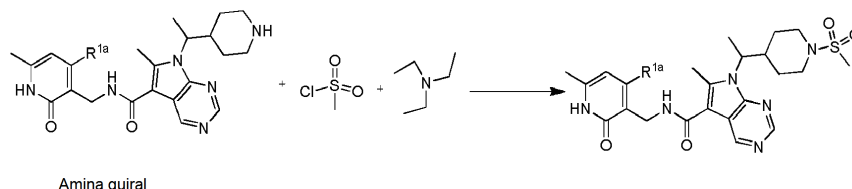
A una solución de ácido indol (1 equivalente) en diclorometano (volumen para hacer la concentración 0,05 M) se le añadieron 1-hidroxibenzotriazol (1,5 equivalentes), clorhidrato de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (1,5 equiv.) y trietilamina (3 equiv.). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. Después, se añadió piridona amina (1,2 equiv.) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. A la mezcla se le añadió agua (50 ml). La mezcla se extrajo con diclorometano (100 ml x 2). La capa orgánica se concentró al vacío para proporcionar el producto en bruto que se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, diclorometano/metanol = 20:1) para proporcionar el compuesto diana.

10 Procedimiento General D: Cromatografía quiral

La separación de compuestos quirales se realizó mediante HPLC de fase normal o SFC (cromatografía de fluidos supercríticos de dióxido de carbono). Los compuestos separados eran típicamente >95 % de e.e. No se determinó la configuración absoluta de los centros quirales.

15

Procedimiento General L: Sulfonilación



A una solución de amina quiral (1 equiv.) en diclorometano (volumen para hacer la concentración 0,1 M) se le añadió trietilamina (4 equiv.) en una atmósfera de N₂. La reacción se enfrió a 0 °C y se añadió cloruro de metanosulfonilo (1,5 equiv.). La reacción se agitó a 0 °C durante 1 h. Después, la mezcla se concentró al vacío y se añadieron metanol y carbonato potásico, y la reacción se agitó durante 1 h más. La mezcla se filtró y el producto en bruto se purificó por HPLC preparativa.

25 La siguiente tabla enumera compuestos de la invención y cuál de los métodos generales anteriores se usó en su síntesis. Las estructuras de estos compuestos se exponen en la figura 1.

Compuesto	Métodos generales usados y notas	Nombre	Datos de RMN	m/z
370	Procedimiento general L en (±)-N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-6-etil-7-(1-(piperidin-4-il)etil)-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-5-carboxamida		¹ H RMN (CDCl ₃ , 400 MHz) δ 12,12 (s, 1H), 9,20 (s, 1H), 8,78 (s, 1H), 7,68 (s, 1H), 5,97 (s, 1H), 4,70-4,58 (m, 2H), 3,91 (s, 4H), 3,62 (d, J = 12,0 Hz, 1H), 2,76-2,67 (m, 7H), 2,45 (dd, J ₁ = 2,0 Hz, J ₂ = 11,6 Hz, 1H), 2,32 (s, 3H), 2,10 (t, J = 12,0 Hz, 1H), 1,67 (d, J = 6,8 Hz, 4H), 1,48-1,40 (m, 1H), 1,37-1,29 (m, 1H), 1,27-1,19 (m, 1H), 0,9-0,78 (m, 1H).	517

Ejemplo 16. Mediciones de Cl₅₀ para inhibidores usando EZH2.

30

Ensayo de EZH2: Los ensayos se realizaron mezclando rPRC2 junto con sustratos de oligonucleosomas biotinilados en presencia del cofactor enzimático radiomarcado, S-adenosil-L-metionina (³H SAM) (Perkin Elmer) y controlando la transferencia mediada enzimáticamente de grupos metilo tritiosos de ³H SAM con respecto a residuos de histona lisina. La cantidad de producto de histona de metilo tritioso resultante se midió capturando primero los oligonucleosomas biotinilados en FlashPlates recubiertas con estreptavidina (SAK) (Perkin Elmer), seguido de una etapa de lavado para eliminar la ³H SAM sin reaccionar, y después contando con un contador de centelleo de placas de 384 TopCount NXT (Perkin Elmer). Las condiciones de ensayo finales para EZH2 fueron las siguientes: tampón Tris 50 mM pH 8,5, DTT 1 mM, detergente Brij-35 69 mM, MgCl₂ 5,0 mM, BSA 0,1 mg/ml, ³H SAM 0,2 μM, oligonucleosomas biotinilados 0,2 μM, péptido H3K27me3 3,6 μM y EZH2 2 nM.

40

Las mediciones de Cl₅₀ de los compuestos se obtuvieron como se indica a continuación: Los compuestos se disolvieron primero en DMSO al 100 % en forma de soluciones madre 10 mM. Se generaron curvas de respuesta a la dosis de diez puntos dispensando cantidades variables de la solución de compuesto 10 mM en 10 pocillos de la placa de 384 pocillos (Echo; Labcyte), después se utilizó DMSO puro para rellenar los pocillos para asegurar que

5 todos los pocillos tenían la misma cantidad de DMSO. Se añadió un volumen de 12,5 µl de la enzima HMT, péptido H3K27me3 y sustrato de oligonucleosoma en tampón de ensayo a cada pocillo de la placa de ensayo usando un Multidrop Combi (ThermoFisher). Los compuestos se preincubaron con la enzima durante 20 min seguido de la iniciación de la reacción de metiltransferasa mediante la adición de 12,5 µl de ³H SAM en tampón de ensayo (volumen final = 25 µl). Las concentraciones finales de compuestos variaron desde una concentración por defecto superior de 80 µM hasta 0,16 µM en diez etapas de dilución de 2 veces. Las reacciones se realizaron durante 60 minutos y se interrumpieron con 20 µl por pocillo de SAH 1,96 mM, Tris 50 mM pH 8,5, EDTA 200 mM. Las reacciones detenidas se transfirieron a Flashplates revestidas con SAV (Perkin Elmer), se incubaron durante 120 min, se lavaron con un lavador de placas y después se leyeron en el TopCount NXT (1,0 min/pocillo) para medir la cantidad de producto de histona de metilo formado durante la reacción. La cantidad de producto de histona de metilo se comparó con la cantidad de producto formado en los pocillos de control del 0 % y el 100 % de inhibición permitiendo el cálculo del % de inhibición en presencia de los compuestos individuales a diversas concentraciones. Las CI₅₀ se calcularon usando un paquete de software de ajuste de curvas no lineales de ajuste de 4 parámetros (XLFIT, parte del paquete de base de datos, ActivityBase (IDBS)) donde los cuatro parámetros fueron CI₅₀, pendiente de Hill, valor inicial pre-transicional (0 % de INH) y valor inicial post-transicional (100 % de INH); fijándose los dos últimos parámetros fijados a cero y el 100 %, respectivamente, por defecto.

El ensayo para Y641N EZH2 se realizó como anteriormente usando oligonucleosomas H3K27Me2 reconstituidos como sustrato.

20 La tabla 2 muestra la actividad de compuestos seleccionados de esta invención en el ensayo de inhibición de la actividad de EZH2 y Y641N EZH2. Los valores de CI₅₀ se notifican como se indica a continuación: "A" indica un valor de CI₅₀ de menos de 100 nM; "B" indica un valor de CI₅₀ de 100 nM a 1 µM; "C" indica un valor de CI₅₀ de más de 1 µM y menos de 10 µM para cada enzima; "D" indica un valor de CI₅₀ de más de 10 µM para cada enzima; y "(X µM)" indica que no se observó inhibición a la concentración más alta (es decir, X µM) del compuesto ensayado.

Tabla 2. Valores de CI₅₀ para los Compuestos de Fórmula I contra las enzimas mutantes EZH2 e Y641N EZH2.

Compuesto n.º	CI ₅₀ de EZH2	CI ₅₀ de Y641N EZH2
183	A	A
204	A	B
211	A	B
212	A	B
217	B	B
218	A	A
219	A	A
223	A	B
224	A	A
229	C	D
230	A	B
231	A	B
234	C	D
235	B	C
236	*(0,5 µM)	*(10 µM)
240	A	B
241	A	B
243	A	B
252	A	B
253	A	B
256	A	B
257	B	C
261	A	A
266	B	B
267	A	B
273	A	A
275	A	A
277	A	A
280	B	C
284	A	B
288	A	A
290	A	B
293	A	B
294	A	A
298	A	A

Compuesto n.º	CI ₅₀ de EZH2	CI ₅₀ de Y641N EZH2
299	A	A
300	A	A
302	B	C
304	A	A
306	A	A
307	A	A
308	B	B
310	A	A
313	A	A
314	A	A
316	A	A
317	A	A
321	A	A
327	A	A
335	A	A
336	A	A
337	A	A
341	A	A
342	A	A
343	A	A
344	A	A
345	A	A
346	A	A
347	A	A
352	A	A
355	A	A
356	A	A
357	A	A
358	A	A
359	A	A
360	A	A
362	A	A
363	A	A
364	A	B
365	A	A
366	A	A
367	A	A
368	A	A
369	A	A
370	A	A
373	A	A
375	A	A
376	A	A
377	A	A

Ejemplo 17. Mediciones de CE50 para los inhibidores en ensayo de células HeLa.

Ensayo de Hela de H3K27me3 MSD. Las células HeLa tripsinizadas se contaron y se diluyeron en DMEM al 10 % (Life Technologies, Cat. n.º 10569) a 5000 células/75 µl. Se colocaron setenta y cinco µl de células en cada pocillo de una placa de fondo plano de 96 pocillos y se incubaron a 37 °C durante 4 horas. Se añadieron 25 µl de compuesto de ensayo (a diversas concentraciones) a las células y la incubación continuó a 37 °C durante 96 horas. El medio se eliminó entonces y las células se aclararon una vez con PBS enfriado con hielo. Se añadieron cuarenta 40 µl de tampón MSD enfriado con hielo (HEPES 10 mM, pH 7,9, MgCl₂ 5 mM, sacarosa 0,25 M, Benzonasa 10 (1:10000), Triton X-100 al 1 % complementado con cóctel de inhibidor de Proteasa 1 x y se añadió clorhidrato de fluoruro de 2-amino-etil)bencenosulfonilo (AEBSF) 1 mM a cada pocillo y las placas se pusieron en hielo durante 30 minutos. Después se añadieron diez µl de NaCl 5 M a cada pocillo y la incubación sobre hielo continuó durante otros 15 minutos. El material en cada pocillo se suspendió pipeteando hacia arriba y hacia abajo y luego se transfirió a una nueva placa de 96 pocillos. Los pocillos vacíos se aclararon con 150 µl de Tris 20 mM enfriado con hielo a pH 7,5, EDTA 1 mM, EGTA 1 mM, complementado con un cóctel de inhibidor de proteasa 1 x recién preparado y AEBSF 1 mM (tampón sin detergente y sin sal) y se transfirieron a los respectivos pocillos en la nueva placa. A continuación, se añadieron trescientos µl de tampón sin detergente y sin sal a cada pocillo de lisados y las placas se congelaron a -80 °C.

El mismo día, se recubrió un número apropiado de placas de 96 pocillos de unión estándar de MSD con 30 µl/pocillo de anticuerpo de captura H3 total (Millipore, Cat. n.º MAB3422) a una concentración de 1 µg/ml en PBS. La solución de anticuerpo se distribuyó uniformemente primero golpeando suavemente los lados de las placas y luego agitando las placas durante unos minutos a 1000 rpm. Las placas recubiertas con anticuerpo se almacenaron a 4 °C durante la noche.

Al día siguiente los lisados se descongelan a TA. Las placas MSD recubiertas con anticuerpo se lavan 3 veces con TBS-T (solución salina tamponada con Tris (Fisher Scientific, Cat. n.º BP2471-1) + Tween-20 al 0,2 %). Se añaden a cada pocillo ciento cincuenta µl de bloqueador A al 5 % en TBS-T. Los pocillos se cubren y se agitan en un agitador a TA durante una hora. La etapa del bloqueador A se repite una segunda vez. Después de eliminar el bloqueador, se transfieren 25 µl de lisado celular en cada pocillo recubierto con anticuerpo. Las placas se agitan durante 2 horas a TA, el lisado se elimina y las placas se lavan de nuevo con el Bloqueador A en TBS-T. Se añaden veinticinco µl de la mezcla de anticuerpos recién preparada apropiada (incluyendo anticuerpos tanto primarios como secundarios) a cada pocillo y las placas se agitan durante 1 hora a TA. La mezcla de anticuerpos usada fue una (o ambas) de las indicadas en la tabla siguiente:

Ab	Concentración (µg/ml)	Ab primario (µl)	Ab de detección anti-conejo (µl)	Bloqueador A al 1 % (µl)
H3K27me3	33	37,88	5,00	5000
H3	12	52,08	5,00	5000

Ambos anticuerpos H3 se obtuvieron a partir de Cell Signalling (Cat. n.º 4499 y 9733). El anticuerpo de cabra anti-ratón se obtuvo a partir de Meso-Scale Discovery (Cat. n.º R32AB-1).

Después, se eliminó la mezcla de anticuerpos y se lavaron los pocillos con el Bloqueador A. Se añadieron entonces ciento cincuenta µl de tampón de lectura MSD 1X recién preparado (Meso-Scale Discovery; Cat. n.º R927C-2) a cada pocillo y las placas se leyeron en un lector de placas MSD Sector 2400.

Los datos se analizaron usando la plantilla de asistente de ensayo (producto interno de Constellation Pharmaceuticals) y de base de actividades (IDBS Ltd, Surrey, Reino Unido). Los archivos de datos se importaron al asistente de ensayo y se especificaron las condiciones del ensayo. Se creó un único ID de análisis y se exportaron los archivos de datos a la base de actividades. Se creó una plantilla de análisis en la base de actividades para medir la inhibición dependiente de la dosis de la marca H3K27me3 y la viabilidad celular, respectivamente. Se usaron lecturas de pocillos de DMSO para normalizar los datos. Las curvas resultantes se ajustaron utilizando el software de base de actividades Modelo 205 (IDBS Ltd, Surrey, Reino Unido). Los datos se verificaron para determinar la calidad, validarse e integrarse en el formato Excel usando SARview (IDBS Ltd, Surrey, Reino Unido).

Ensayo de Hela H3K27me3 Alpha (AlphaLISA). Se pusieron en placas diez dosis diferentes de cada compuesto de ensayo (en una serie de diluciones de 3 veces) en placas tratadas con cultivo tisular de 384 pocillos por duplicado (Catálogo n.º 781080; Greiner Bio One; Monroe, North Carolina). Las células Hela cultivadas en el cultivo se tripsinizaron y se contaron usando un contador celular Countess® (Catálogo n.º C10281; Life Technologies, Grand Island, NY). Las células se diluyeron en 67.000 células por ml en 10 DMEM (Catálogo n.º 10569-010 Life Technologies, Grand Island, NY) y 15 µl (1.000 células) se pusieron en placas en cada pocillo usando el dispensador de selección Biotek MicroFlo™ (BioTek Instruments, Inc. Vermont, Estados Unidos) de la placa de 384 pocillos. Las placas se incubaron a 37 °C/CO₂ al 5 % durante 72 h. Una de las placas duplicadas se procesó para el ensayo HeLa y la otra para determinar la viabilidad.

A la placa procesado para AlphaLISA se le añadieron 5 µl por pocillo de tampón de lisis de histona celular (1 x) (Catálogo n.º AL009F1 Perkin Elmer; Waltham, MA) y la placa se incubó a TA durante 30 minutos en un agitador de placas con baja velocidad (Modelo n.º 4625-Q Thermo Scientific; Waltham, MA). Después, se añadieron 10 µl por pocillo de tampón de extracción de histona (catálogo n.º AL009F2; Perkin Elmer; Waltham, MA) y la placa se incubó adicionalmente a TA durante 20 min en un agitador de placas con baja velocidad. Después, a cada pocillo se le añadieron 10 µl por pocillo de una mezcla 5 x de perlasceptoras anti-K27me3 más anticuerpo biotinilado anti-Histona H3 (C-ter) (diluido en final 3 nM) (Catálogo n.º AL118 Perkin Elmer; Waltham, MA). La dilución de las perlasceptoras y después anti-Histona H3 fue con un tampón de detección de histona 1 x (Catálogo n.º AL009F3 Perkin Elmer; Waltham, MA) que se produjo diluido a partir de la solución madre 10 x proporcionada. La placa se cerró herméticamente con un sellador de placas de aluminio y se incubó a 23 °C durante 60 min. Después, se añadieron 10 µl de una solución 5 x de perlas donantes de estreptavidina (Catálogo n.º 6760002 Perkin Elmer; Waltham, MA) (20 µg/ml de final en tampón de detección de histona 1 x), se selló la placa con el sellador de placas de aluminio y se incubó a 23 °C durante 30 min. Después, las placas se leyeron usando un EnVision-Alpha (modelo n.º 2104 Perkin Elmer; Waltham, MA).

La viabilidad celular se ensayó añadiendo 15 µl de Cell Titer Glo (Catálogo n.º G7571 Promega Madison, WI) a cada pocillo con células con medio. Las placas se incubaron a TA durante 15 - 20 minutos en un agitador de placas

a baja velocidad. Después, las placas se leyeron usando un lector EnVision- Alpha (modelo n.º 2104 Perkin Elmer; Waltham, MA).

Los datos de ambos ensayos se analizaron usando la plantilla de asistente de ensayo (producto interno de Constellation Pharmaceuticals) y de base de actividades (IDBS Ltd, Surrey, Reino Unido). Los archivos de datos se importaron al asistente de ensayo y se especificaron las condiciones del ensayo. Se creó un único ID de análisis y se exportaron los archivos de datos a la base de actividades. Se creó una plantilla de análisis en la base de actividades para medir la inhibición dependiente de la dosis de la marca H3K27me3 y la viabilidad celular, respectivamente. Se usaron lecturas de pocillos de DMSO para normalizar los datos. Las curvas resultantes se ajustaron utilizando el software de base de actividades Modelo 205 (IDBS Ltd, Surrey, Reino Unido). Los datos se verificaron para determinar la calidad, validarse e integrarse en el formato Excel usando SARview (IDBS Ltd, Surrey, Reino Unido).

La Tabla 3 muestra la actividad de compuestos seleccionados de esta invención en los dos ensayos de células HeLa diferentes descritos anteriormente. Los valores de CE₅₀ se notifican como se indica a continuación: "A" indica un valor de CE₅₀ de menos de 400 nM; "B" indica un valor de CE₅₀ de 400 nM a 2 µM; "C" indica un valor de CE₅₀ de más de 2 µM y menos de 10 µM para cada enzima; "D" indica un valor de CE₅₀ de más de 10 µM para cada enzima; y "(X µM)" indica que no se observó inhibición a la concentración más alta (es decir, X µM) del compuesto ensayado.

20 **Tabla 3. Valores de CE₅₀ para los compuestos seleccionados de la invención en células HeLa que expresan mutante de H3k27 EZH2.**

Compuesto n.º	H3K27me3_Alpha_HeLa (CE50)	H3K27me3_MSD_HeLa_ (CE50)
204		B
211		B
212		B
218		A
219		B
224	A	A
230		B
240		C
241		B
243		C
253	A	
256		B
261	A	A
273		A
284		B
288	A	B
294	A	A
298	A	A
300	A	A
304	A	A
310	A	A
313	A	A
314	A	
315		D
316		B
317		A
321		A
327		A
335	A	
336	A	
337	A	
341	A	
342	A	
343	B	
344	A	
345	A	
346	A	
347	B	
352	B	
355	A	
356	A	

Compuesto n.º	H3K27me3 Alpha HeLa (CE50)	H3K27me3 MSD HeLa (CE50)
357	A	
358	B	
359	B	
360	C	
362	A	
363	A	
364	*(3,33 µM)	
365	A	
366	B	
367	A	
368	A	
369	A	
370	*(3,33 µM)	
373	A	
374	A	
375	A	
376	NaN	
377	B	

Ejemplo 18. Análisis de inhibición del crecimiento tumoral

La eficacia anti-tumoral del Compuesto 362 y 365 en el modelo de xenoinjerto de linfoma humano Karpas422 subcutáneo en ratones CB-17 SCID hembra fue como se indica a continuación.

Animales

- 10 Especie: *Mus Musculus*
 Cepa: Ratones CB-17 SCID
 Edad: 6-8 semanas
 Sexo: hembra
 Peso corporal: 18-22 g
 Número de animales: 50 ratones más reserva
 15 Proveedor de animales: Shanghai SLAC Laboratory Animal Co., LTD.

Cultivo celular

- 20 Las células tumorales Karpas422 se mantuvieron *in vitro* como un cultivo de suspensión en medio RPMI1640 complementado con suero fetal de ternero inactivo por calor al 10 % a 37 °C en una atmósfera de CO₂ al 5 % en aire. Las células tumorales se subcultivaron rutinariamente dos veces por semana. Las células que crecen en una fase de crecimiento exponencial se cosecharon y se contaron para la inoculación tumoral.

Inoculación Tumoral

- 25 Cada ratón se inoculó por vía subcutánea en el costado derecho con las células tumorales Karpas422 (5×10^6) en 0,2 ml de PBS con Matrigel (1:1) para el desarrollo tumoral. El día 23 después de la inoculación del tumor fue como el día 0 después del inicio del tratamiento cuando el tamaño tumoral medio alcanzó aproximadamente 300 mm³.
 30 Cada grupo consistía en 10 ratones con tumor.

Mediciones tumorales

- El tamaño tumoral se midió tres veces por semana en dos dimensiones usando un calibre, y el volumen se expresó en mm³ usando la fórmula: $V = 0,536 a \times b^2$ donde a y b son los diámetros largo y corto del tumor, respectivamente.
 35 El tamaño del tumor se utilizó entonces para los cálculos de los valores T/C. El valor T/C (en porcentaje) es una indicación de la eficacia antitumoral; T y C son los volúmenes medios de los grupos tratado y de control, respectivamente, en un día determinado. TGI se calculó para cada grupo usando la fórmula: $TGI (\%) = [1 - (Ti - T0) / (Vi - V0)] \times 100$; Ti es el volumen tumoral medio de un grupo de tratamiento en un día determinado, T0 es el volumen tumoral medio del grupo de tratamiento el día del inicio del tratamiento, Vi es el volumen tumoral medio del grupo de control de vehículo el mismo día con Ti, y V0 es el volumen tumoral promedio del grupo de vehículo en el día del inicio del tratamiento.
 40

Criterio de valoración experimental y recogida de muestras

- 45 1). El plasma, el tumor y el músculo en el grupo EPZ-6438 se recogieron el día 16 después del inicio del tratamiento

a las 6 h después de la dosificación. El plasma, el tumor y el músculo en los grupos CPI-524369, CPI-524416 y CPI-591780 de vehículo se recogieron el día 25 después del inicio del tratamiento 1 h después de la dosificación. 2). Se extrajo toda la sangre de cada animal con EDTA-K2 como anticoagulante. El plasma se dividió en dos partes. La primera parte fue para análisis de PK; la segunda parte se congeló para la copia de reserva. 3). El tumor se dividió en tres partes. La primera parte se congeló instantáneamente para PK; la segunda parte se congeló instantáneamente para el análisis de PD; la tercera parte se congeló para las copias de reserva. 4). El músculo se dividió en dos partes. La primera parte se congeló instantáneamente para PK; la segunda parte se congeló para la copia de reserva.

10 Análisis de inhibición del crecimiento tumoral

Tabla 4. Cálculo de la inhibición del crecimiento tumoral para los Compuestos 362 y 365 en el modelo de xenoinjerto karpas422 calculado en base a las mediciones del volumen tumoral el día 25 o el día 16 después del inicio del tratamiento

Tratamiento	Tamaño tumoral (mm ³) ^a el día 25	T/C ^b (%)	TGI (%)	Significación ^d
Vehículo	1704 ± 123	--	--	--
Compuesto 362 (160 mg/kg)	385 ± 66	22,59	92,75	***
Compuesto 365 (160 mg/kg)	319 ± 67	18,72	97,25	***

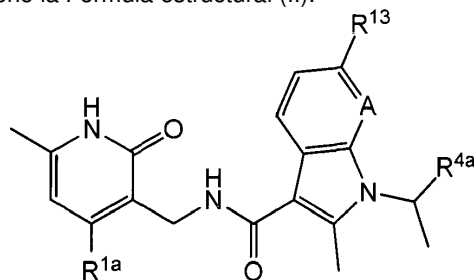
Nota: a. Media ± SEM.

b. La inhibición del crecimiento tumoral se calcula dividiendo el volumen tumoral medio del grupo para el grupo tratado por el volumen tumoral medio del grupo para el grupo de control (T/C). Para que un artículo de prueba se considere que tiene actividad antitumoral, T/C debe ser 0,5 o menos. d. Diferencia estadísticamente significativa (ANOVA unidireccional), frente a vehículo: ***p<0,001.

15

En lo sucesivo en el presente documento se describen realizaciones preferidas adicionales de la invención:

1. Un compuesto que tiene la Fórmula estructural (II):



(II);

20

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

A es CH o N;

R^{1a} se selecciona de entre -alquilo C₁-C₂ y -O-(alquilo C₁-C₂), en la que R^{1a} está opcionalmente sustituido con uno o más flúor;

25

R^{4a} se selecciona de entre 1-haloalquil (C₁-C₃)-piperidin-4-ilo, cicloalquilo C₃-C₆ opcionalmente sustituido con uno o más flúor, y tetrahidropiraniilo; y

R¹³ se selecciona de entre hidrógeno, halo, fenilo, piridinilo, y -O-(alquilo C₁-C₄).

30

2. El compuesto de la realización 1, en el que R^{1a} se selecciona de entre -OCH₃, -CH₃, -OCHF₂ y -CH₂CH₃.

35

3. El compuesto de una cualquiera de las realizaciones 1 o 2, en el que R^{4a} se selecciona de entre 4,4-difluorociclohexilo, ciclopropilo, tetrahidropiran-4-ilo, 1-(t-butoxicarbonil)-piperidin-4-ilo, 1-(isobutoxicarbonil)-piperidin-4-ilo, 1-(isopropoxicarbonil)-piperidin-4-ilo, 1-(2-fluoroetil)-piperidin-4-ilo, 1-(2,2-difluoroetil)-piperidin-4-ilo, 1-(2,2,2-trifluoroetil)-piperidin-4-ilo, 1-(2-hidroxiisobutil)-piperidin-4-ilo, 1-(hidroxiisopropilcarbonil)-piperidin-4-ilo, 1-(etoxicarbonilmetil)-piperidin-4-ilo, 1-(isopropilcarbonil)-piperidin-4-ilo, 1-metilpiperidin-4-ilo, 1-(metilsulfonyl)-piperidin-4-ilo, 1-(etilsulfonyl)-piperidin-4-ilo, 1-(isopropilsulfonyl)-piperidin-4-ilo, 1-(fenil)-piperidin-4-ilo, 1-(oxetan-3-il)piperidin-4-ilo, 1-(piridin-2-il)-piperidin-4-ilo, y 1-(pirimidin-2-il)-piperidin-4-ilo.

40

4. El compuesto de una cualquiera de las realizaciones 1 a 3, en el que R¹³ se selecciona de entre hidrógeno, cloro, flúor, -OCH(CH₃)₂, fenilo, y piridin-2-ilo.

5. El compuesto de la realización 1, en el que el compuesto es N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1-(1-(1-(2,2,2-trifluoroetil)piperidin-4-il)etil)-1H-indolo-3-carboxamida, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

45

6. El compuesto de la realización 5, en el que el compuesto es R-N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1-(1-(1-(2,2,2-trifluoroetil)piperidin-4-il)etil)-1H-indolo-3-carboxamida, o una

sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

7. El compuesto de la realización 1, en el que el compuesto es 1-(1-(1-(2,2-difluoroetil)piperidin-4-il)etil)-N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1H-indolo-3-carboxamida, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

5 8. El compuesto de la realización 7, en el que el compuesto es R-1-(1-(1-(2,2-difluoroetil)piperidin-4-il)etil)-N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1H-indolo-3-carboxamida, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

10 9. El compuesto de la realización 1, en el que el compuesto es 1-(1-(1-etilpiperidin-4-il)etil)-N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1H-indolo-3-carboxamida, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

10. El compuesto de la realización 9, en el que el compuesto es R-1-(1-(1-etilpiperidin-4-il)etil)-N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1H-indolo-3-carboxamida, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

15 11. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de una cualquiera de las realizaciones 1 a 10, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

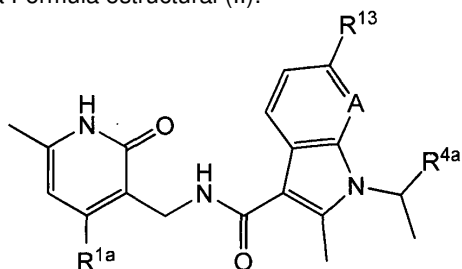
12. Un compuesto de una cualquiera de las realizaciones 1 a 10, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de una enfermedad o trastorno asociado a la proliferación celular.

13. El compuesto para su uso de la realización 12, en el que la enfermedad es cáncer.

20 14. El compuesto para su uso de la realización 13, en el que el cáncer se selecciona de entre cáncer de mama, cáncer de próstata, colon cáncer, carcinoma de células renales, glioblastoma cáncer multiforme, cáncer de vejiga, melanoma, cáncer bronquial, linfoma, y cáncer de hígado.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene la Fórmula estructural (II):



(II);

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

A es CH o N;

R^{1a} se selecciona de entre -alquilo C₁-C₂ y -O-(alquilo C₁-C₂), en la que R^{1a} está opcionalmente sustituido con uno o más flúor;

- 10 R^{4a} se selecciona de entre 1-haloalquil (C₁-C₃)-piperidin-4-ilo, cicloalquilo C₃-C₆ opcionalmente sustituido con uno o más flúor, y tetrahidropirano; y

R¹³ se selecciona de entre hidrógeno, halo, fenilo, piridinilo, y -O-(alquilo C₁-C₄).

- 15 2. El compuesto de la reivindicación 1, en el que R^{1a} se selecciona de entre -OCH₃, -CH₃, -OCHF₂, y -CH₂CH₃.
3. El compuesto de la reivindicación 1 o 2, en el que R^{4a} se selecciona de entre 4,4-difluorociclohexilo, ciclopropilo, tetrahidropiran-4-ilo, 1-(2-fluoroetil)-piperidin-4-ilo, 1-(2,2-difluoroetil)-piperidin-4-ilo, 1-(2,2,2-trifluoroetil)-piperidin-4-ilo.
- 20 4. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que R¹³ se selecciona de entre hidrógeno, cloro, flúor, -OCH(CH₃)₂, fenilo, y piridin-2-ilo.
5. El compuesto de la reivindicación 1, en el que el compuesto es N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1-(1-(1-(2,2,2-trifluoroetil)piperidin-4-il)etil)-1H-indolo-3-carboxamida, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.
- 25 6. El compuesto de la reivindicación 5, en el que el compuesto es R-N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1-(1-(1-(2,2,2-trifluoroetil)piperidin-4-il)etil)-1H-indolo-3-carboxamida, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.
- 30 7. El compuesto de la reivindicación 1, en el que el compuesto es 1-(1-(1-(2,2-difluoroetil)piperidin-4-il)etil)-N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1H-indolo-3-carboxamida, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.
- 35 8. El compuesto de la reivindicación 7, en el que el compuesto es R-1-(1-(1-(2,2-difluoroetil)piperidin-4-il)etil)-N-((4-metoxi-6-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-metil-1H-indolo-3-carboxamida, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.
9. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 40 10. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de una enfermedad o trastorno asociado a la proliferación celular.
- 45 11. El compuesto para su uso de la reivindicación 10, en el que la enfermedad es cáncer.
12. El compuesto para su uso de la reivindicación 11, en el que el cáncer se selecciona de entre cáncer de mama, cáncer de próstata, colon cáncer, carcinoma de células renales, glioblastoma cáncer multiforme, cáncer de vejiga, melanoma, cáncer bronquial, linfoma, y cáncer de hígado.

50

FIG. 1

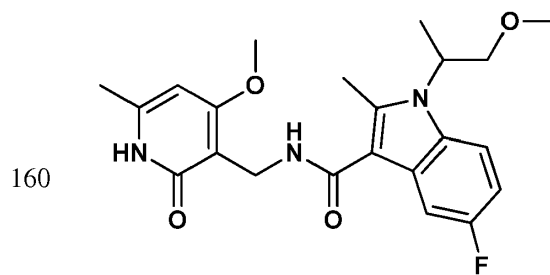
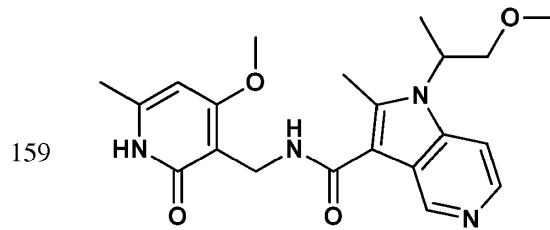
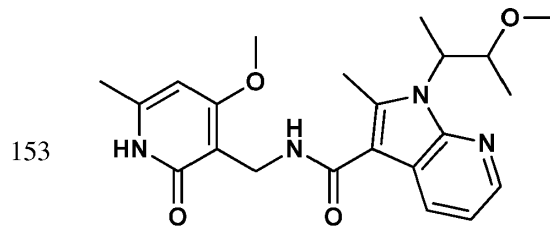
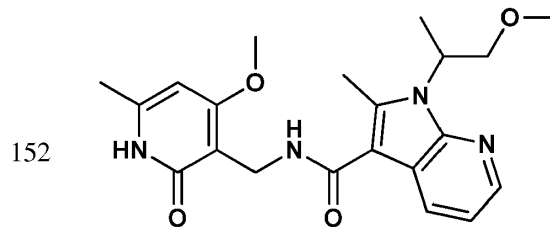


FIG. 1

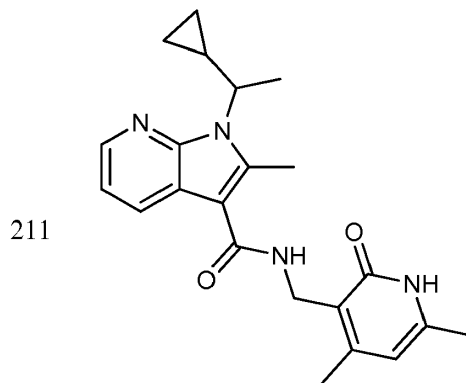
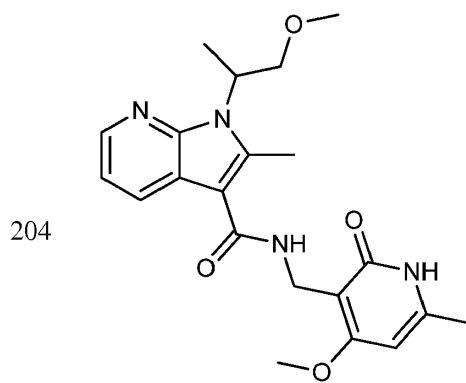
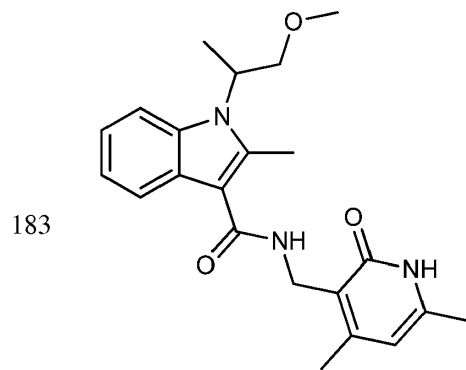


FIG. 1

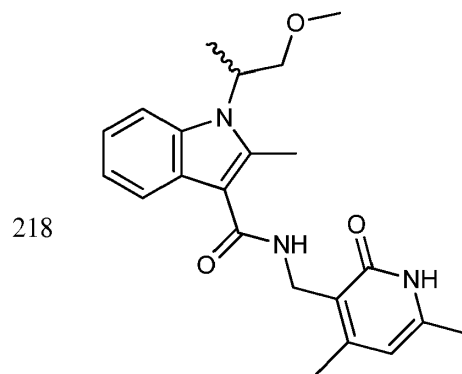
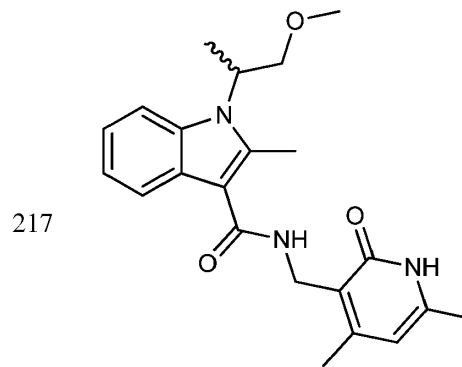
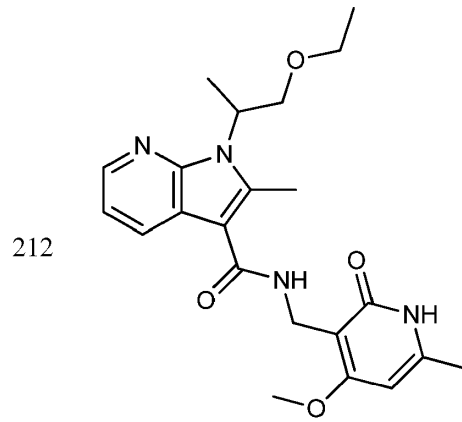


FIG. 1

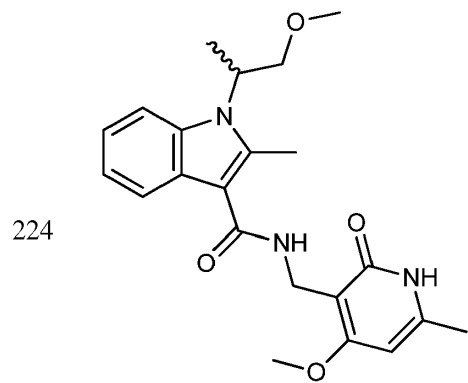
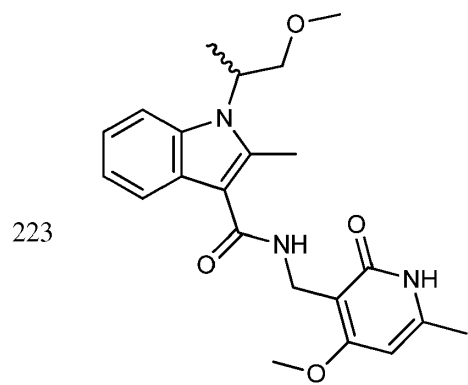
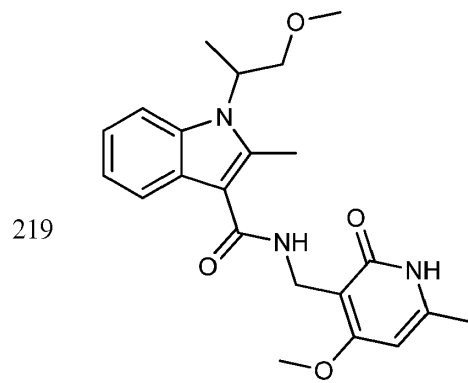


FIG. 1

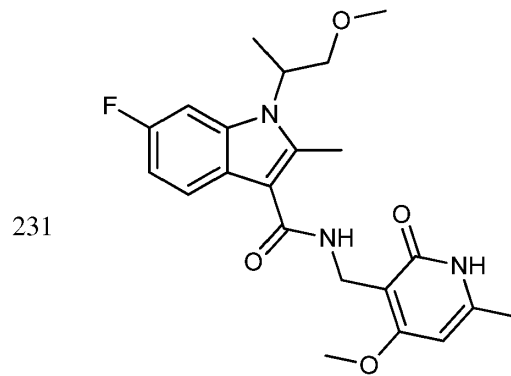
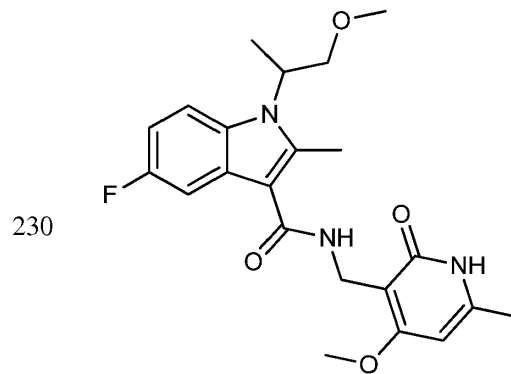
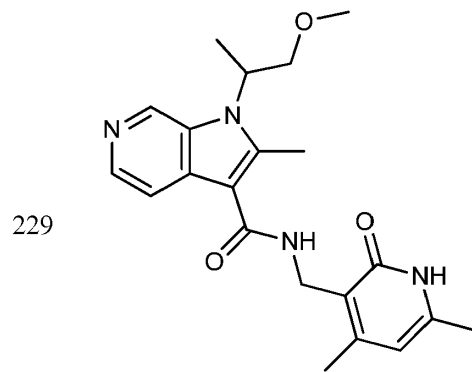


FIG. 1

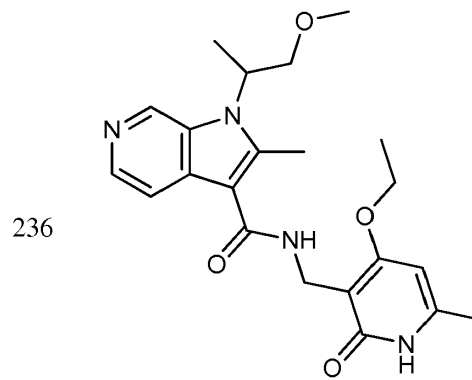
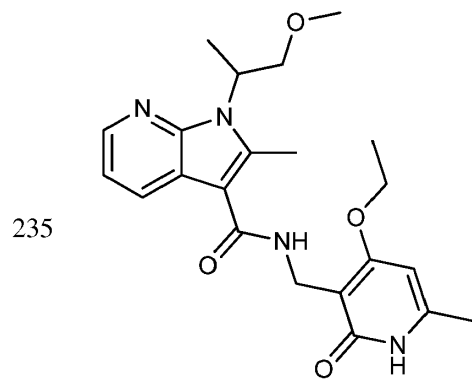
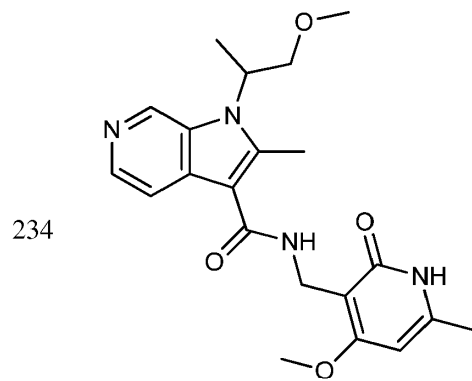


FIG. 1

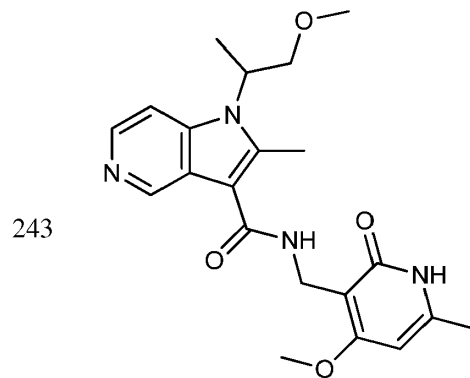
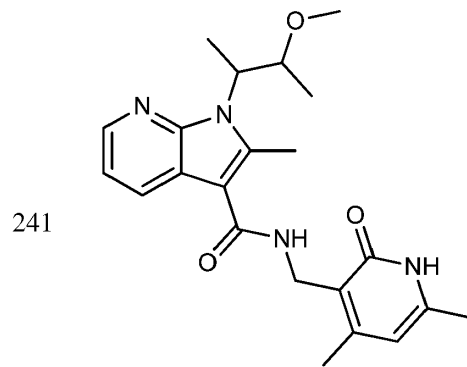
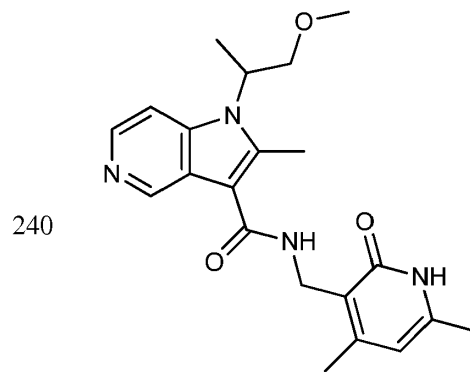


FIG. 1

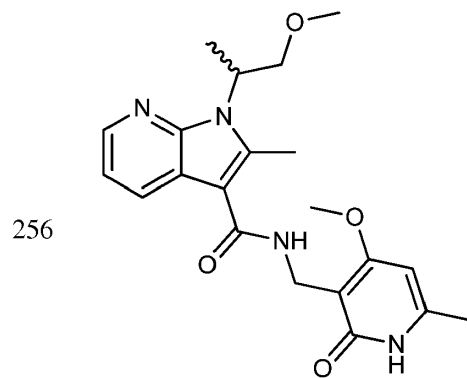
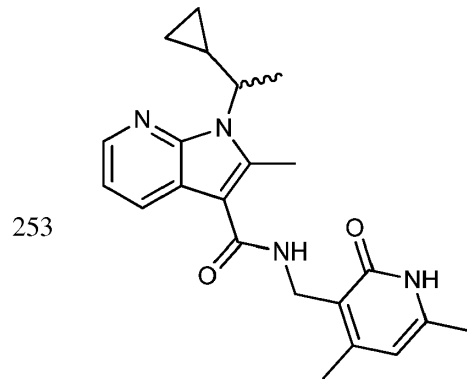
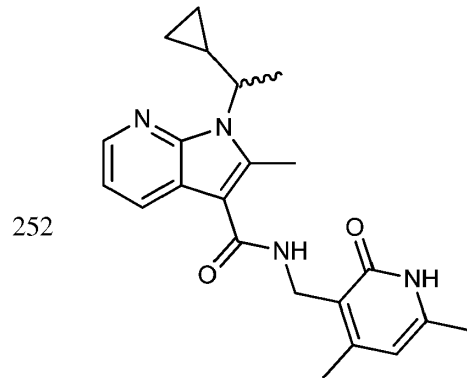


FIG. 1

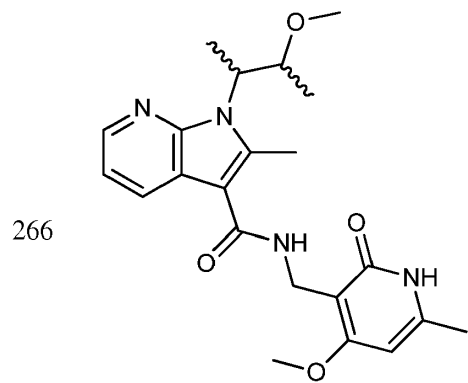
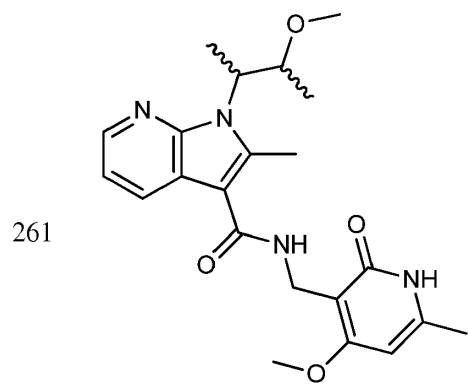
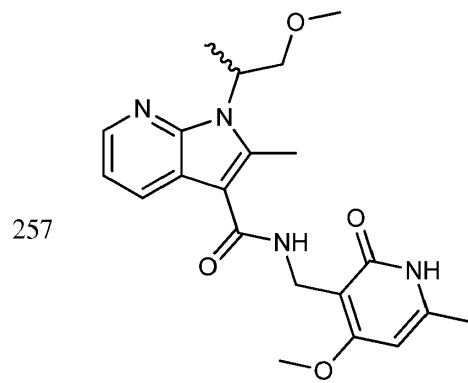


FIG. 1

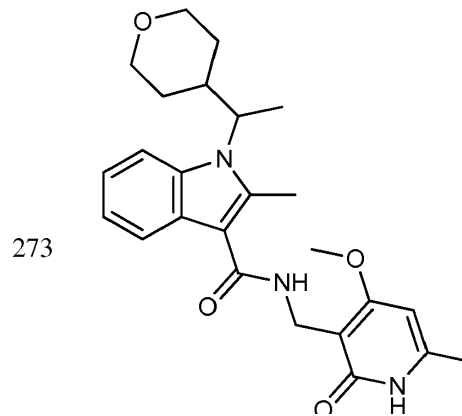
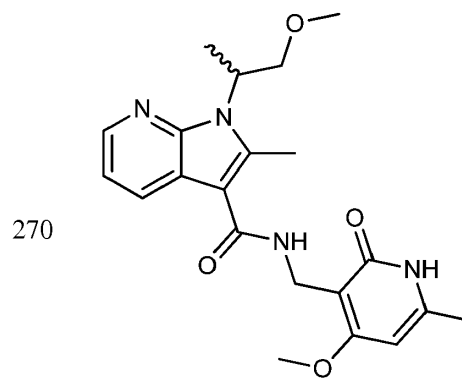
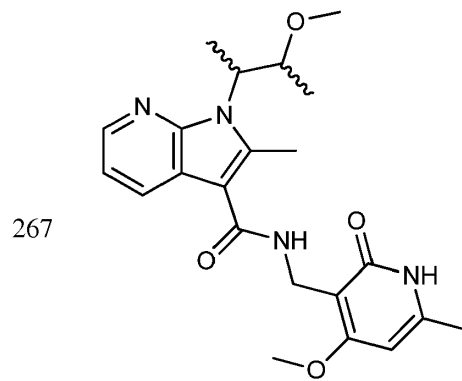


FIG. 1

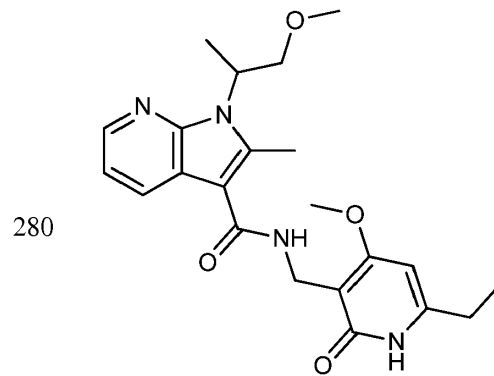
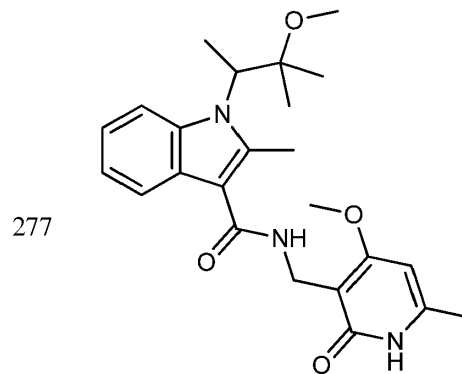
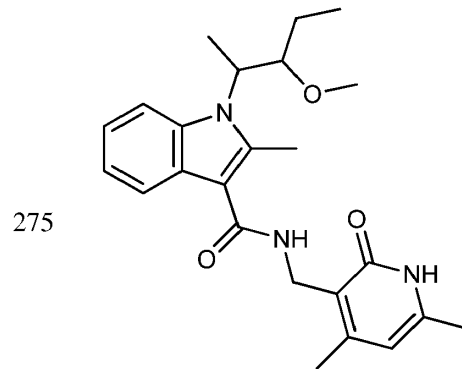


FIG. 1

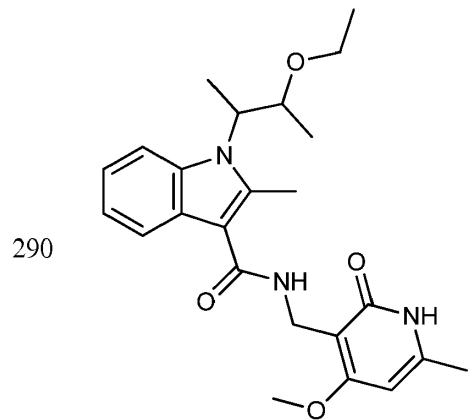
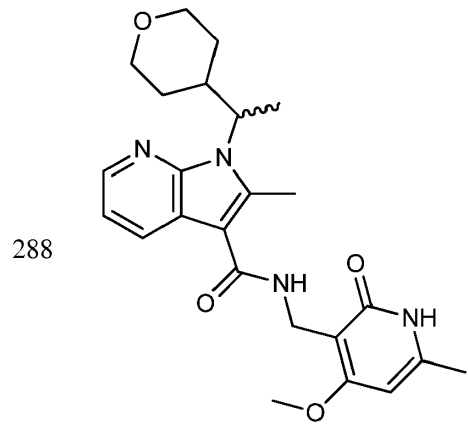
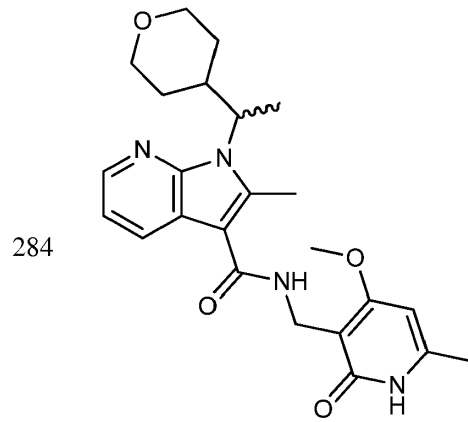


FIG. 1

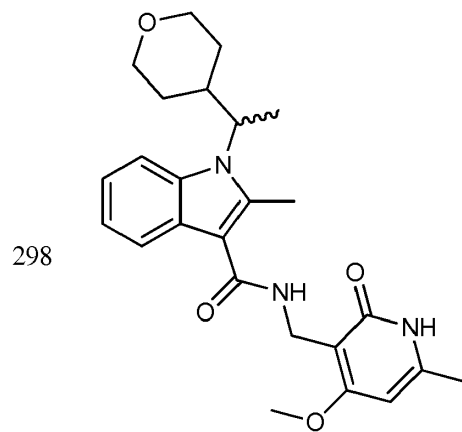
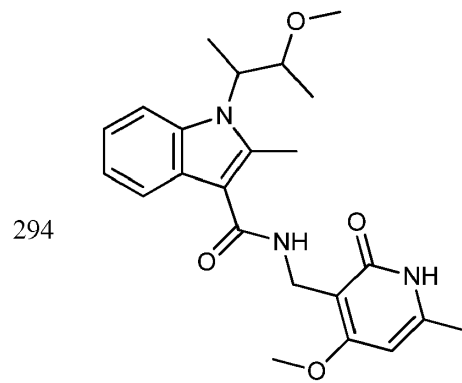
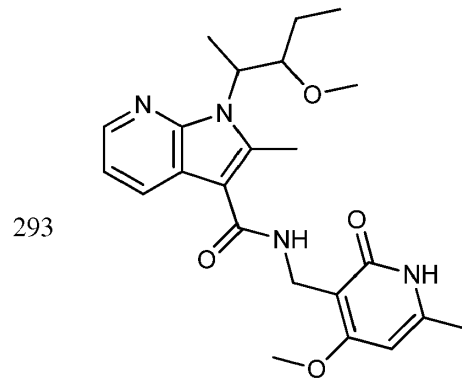


FIG. 1

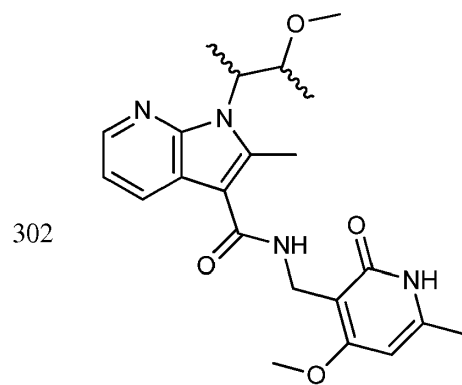
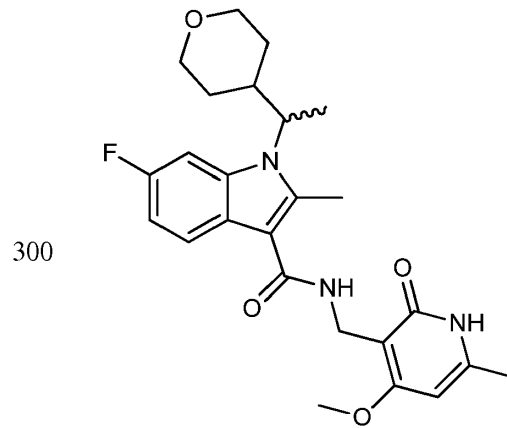
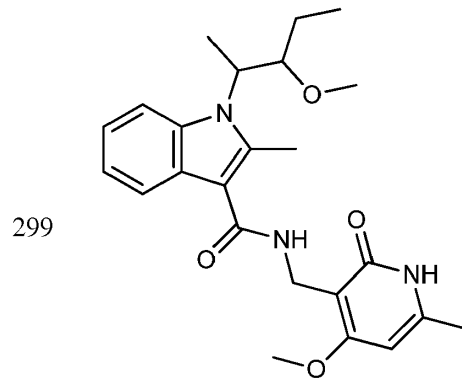


FIG. 1

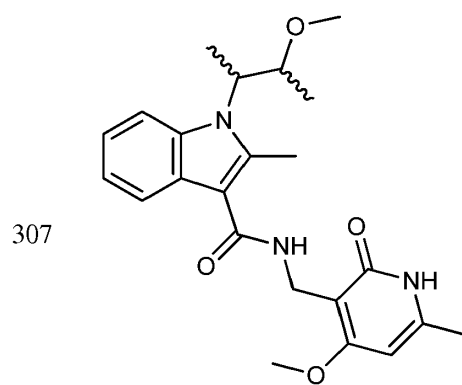
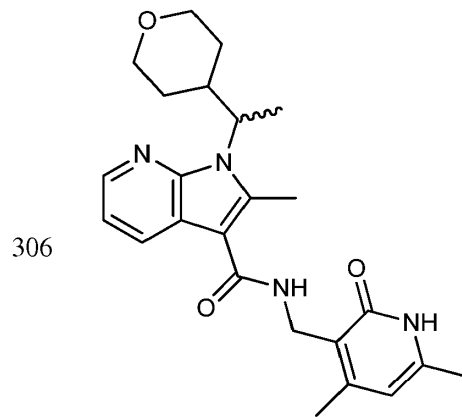
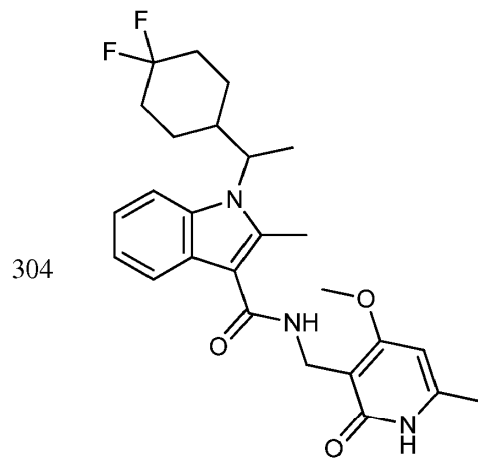


FIG. 1

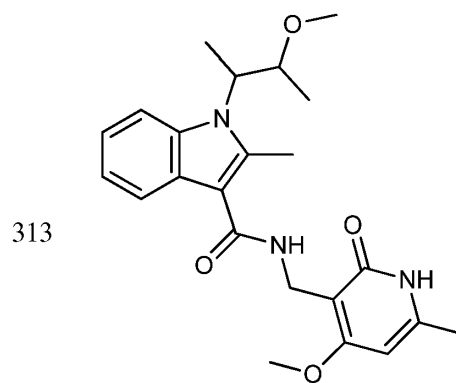
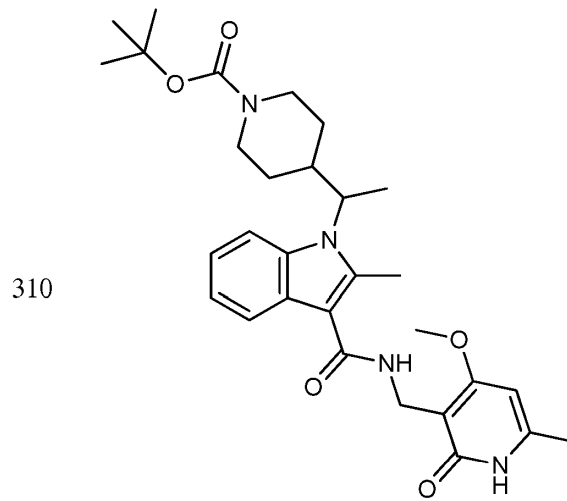
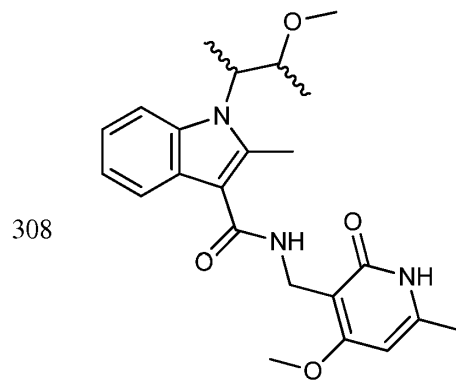


FIG. 1

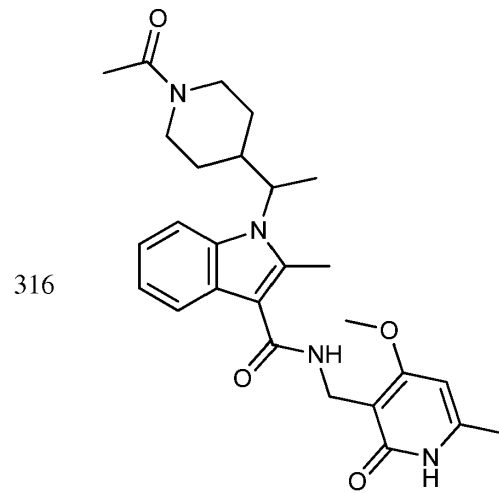
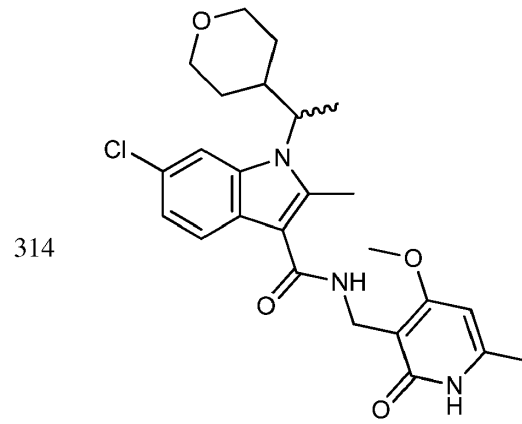


FIG. 1

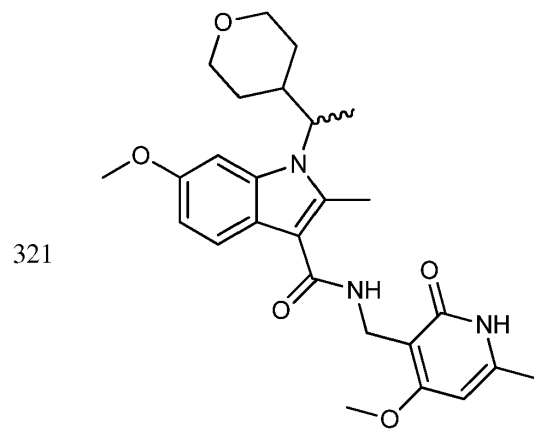
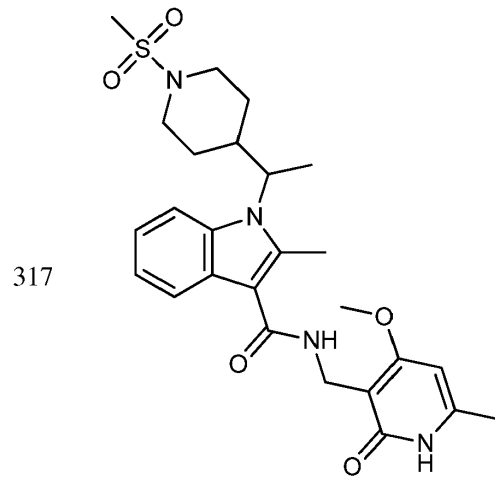


FIG. 1

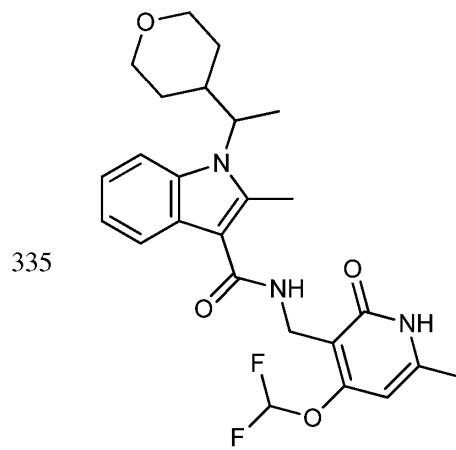
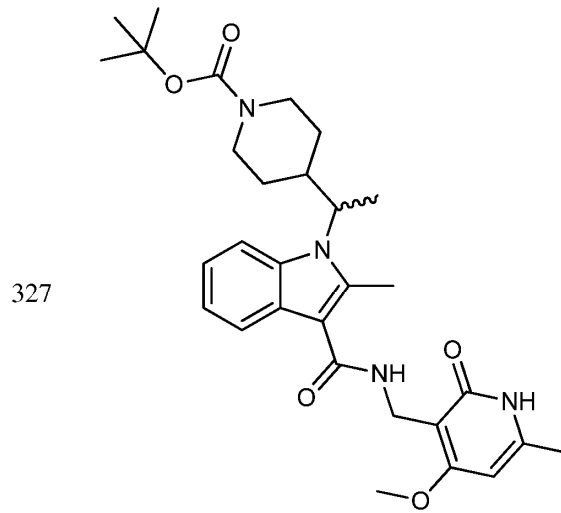


FIG. 1

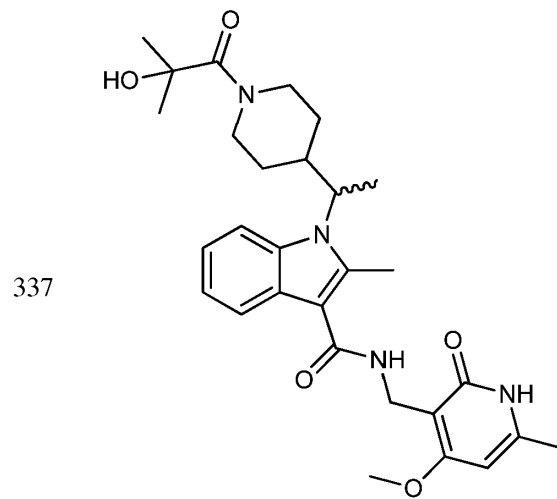
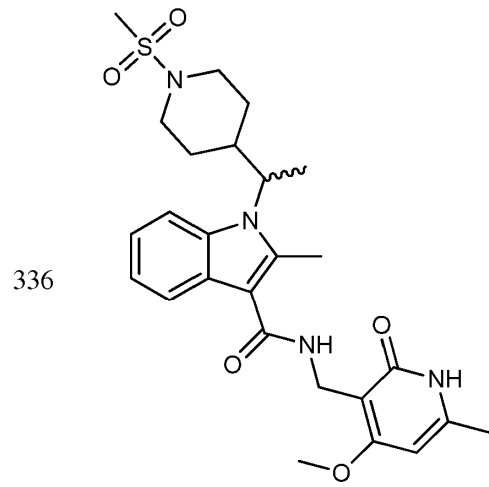


FIG. 1

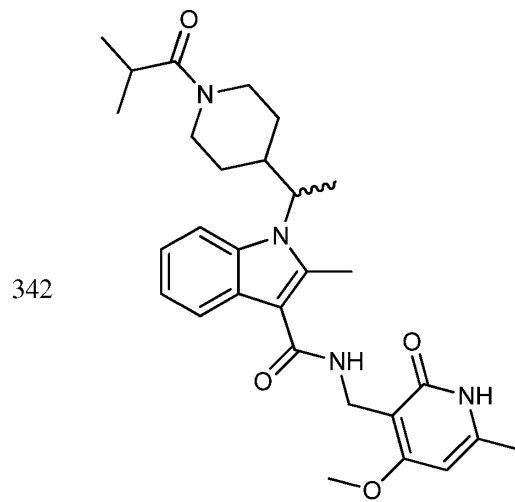
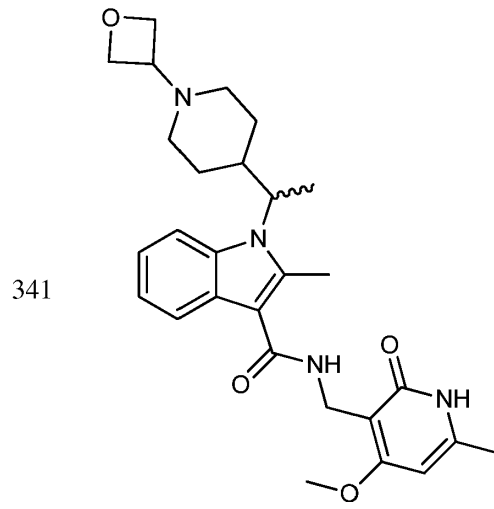


FIG. 1

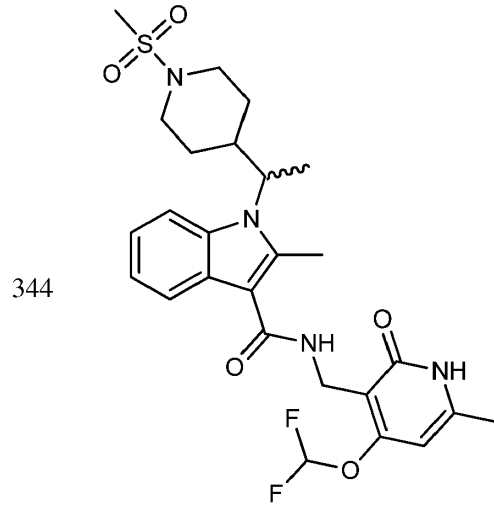
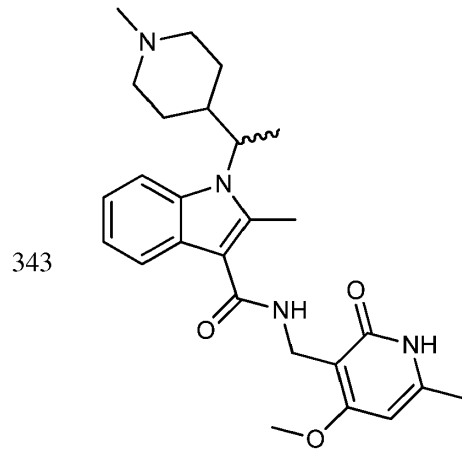


FIG. 1

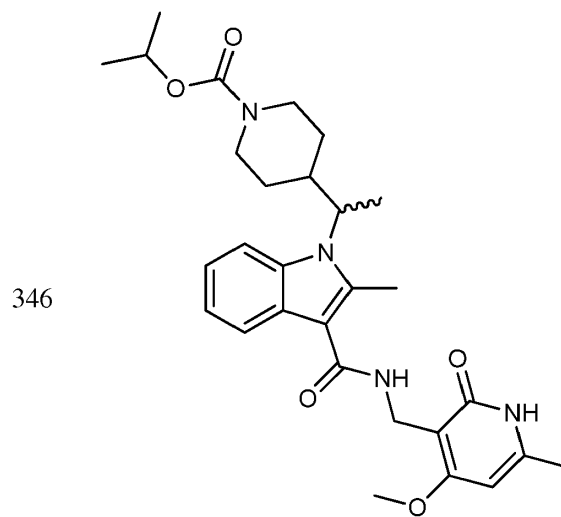
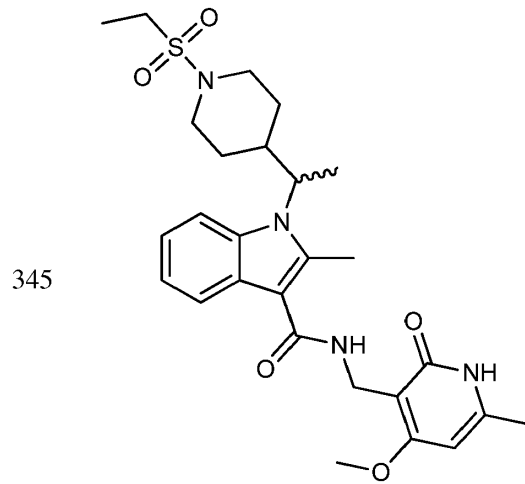


FIG. 1

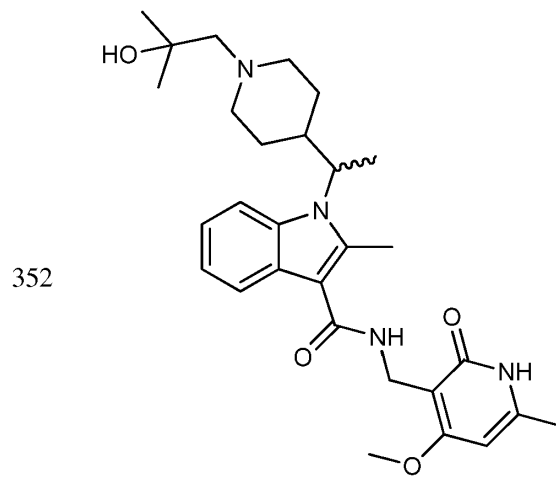
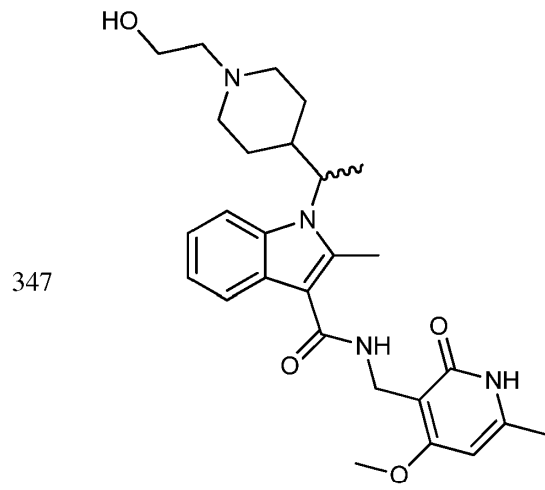


FIG. 1

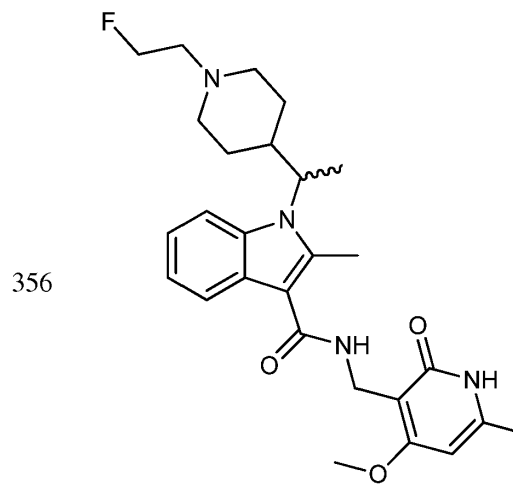
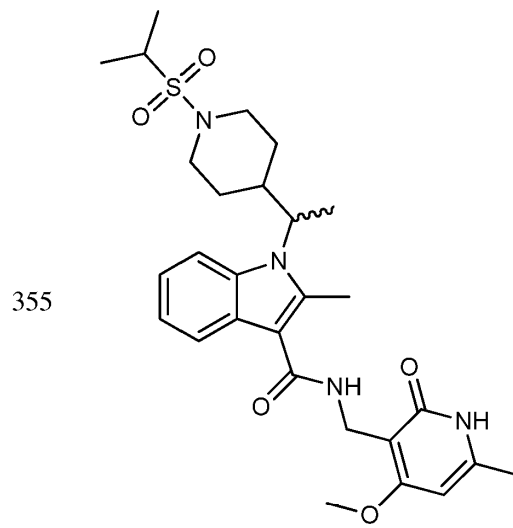


FIG. 1

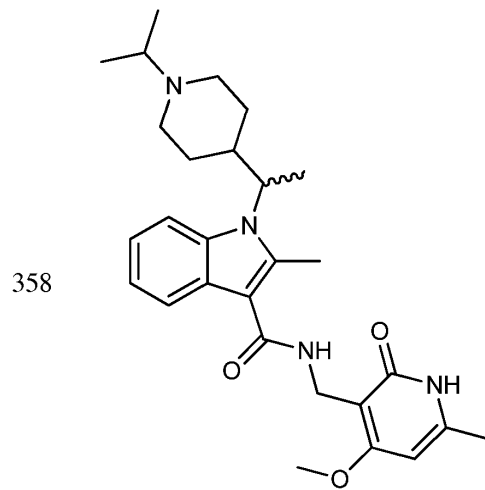
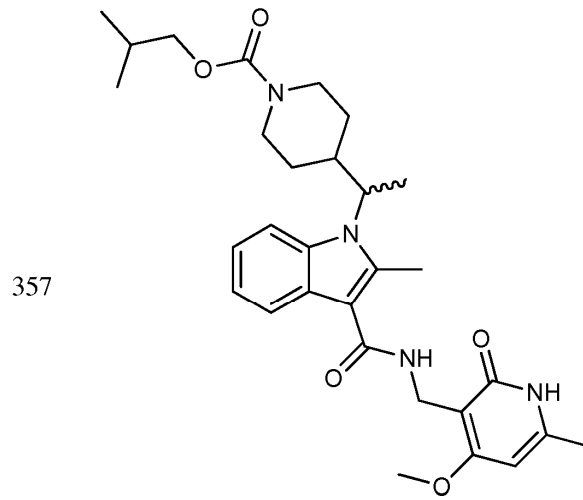


FIG. 1

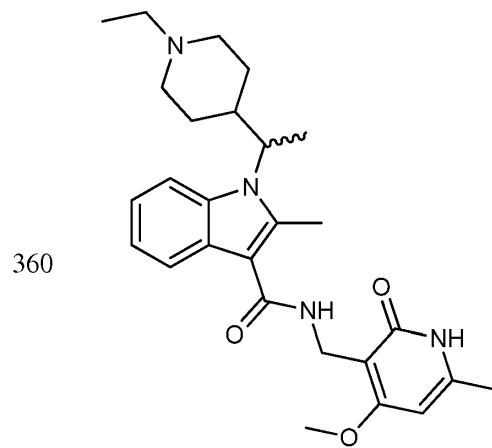
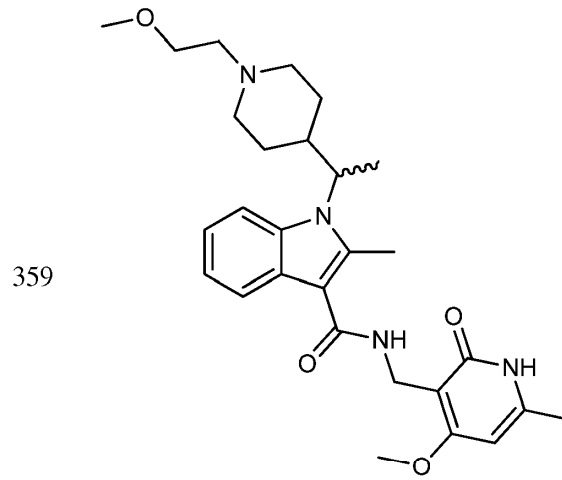


FIG. 1

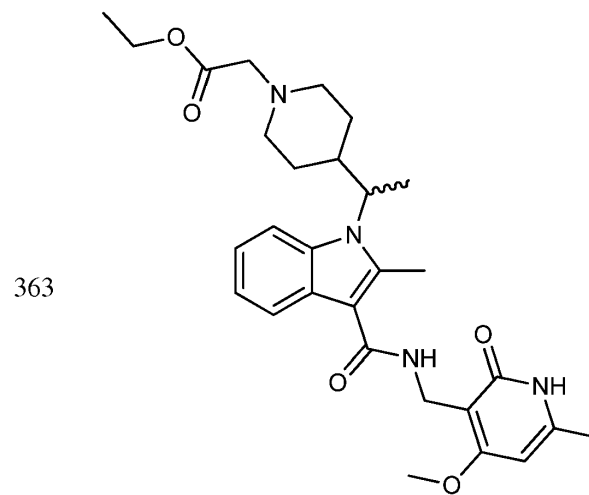
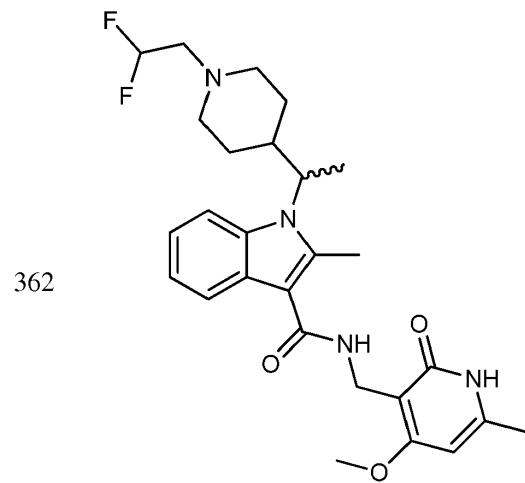


FIG. 1

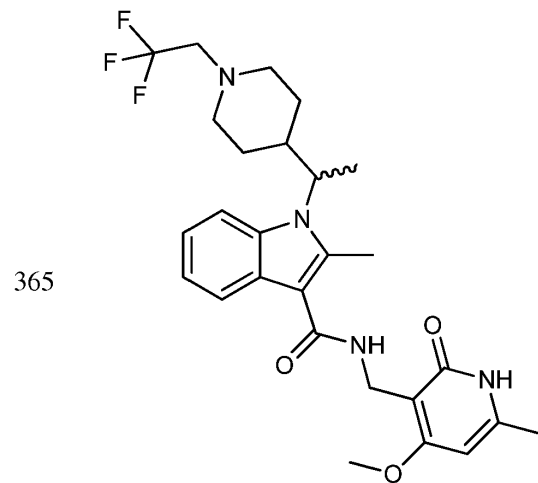
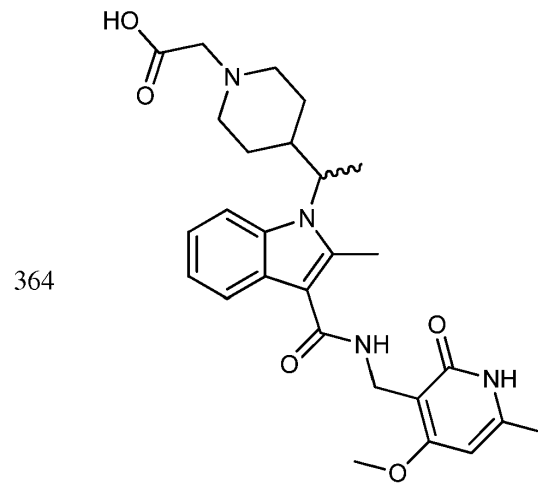


FIG. 1

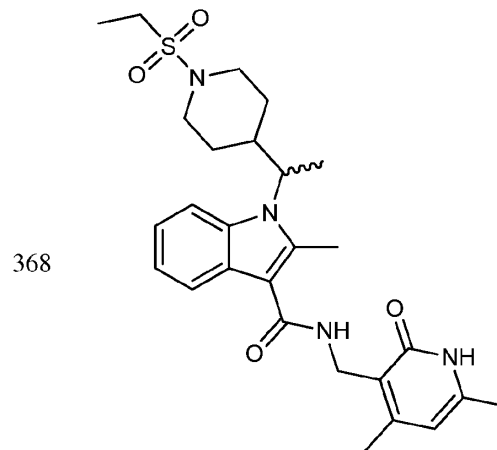
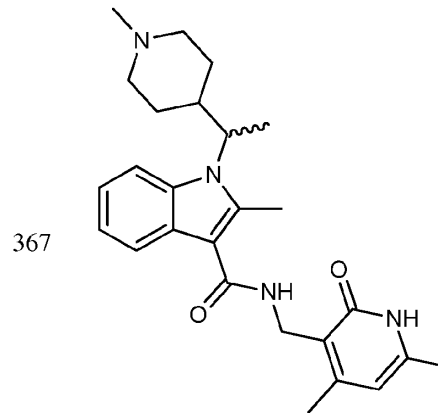
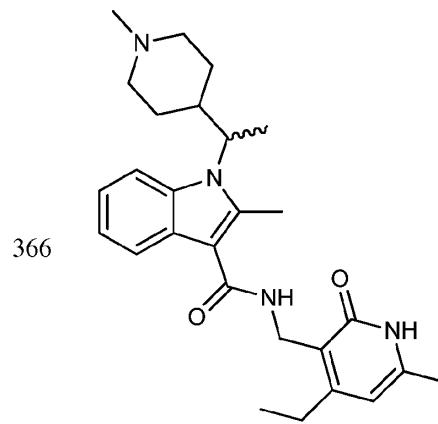


FIG. 1

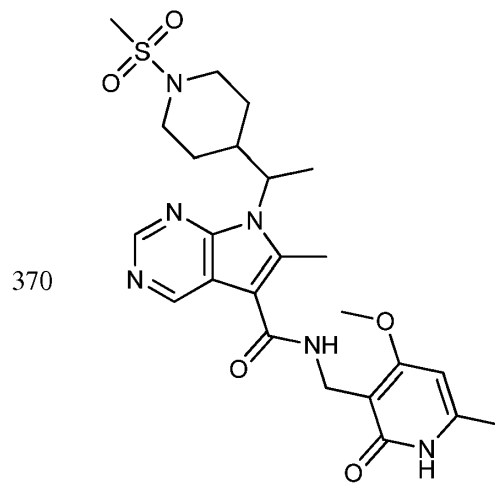
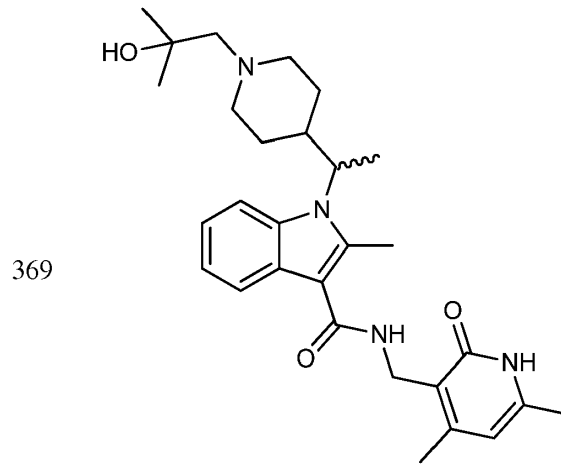


FIG. 1

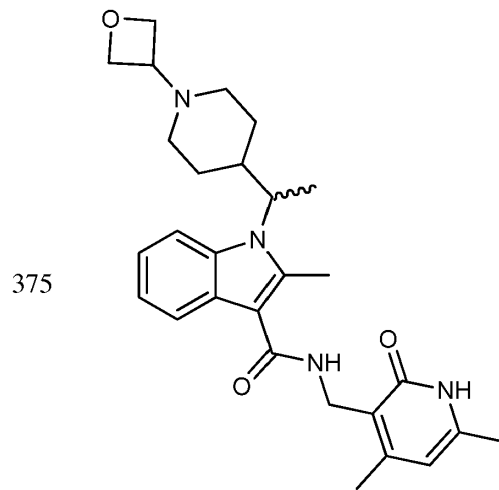
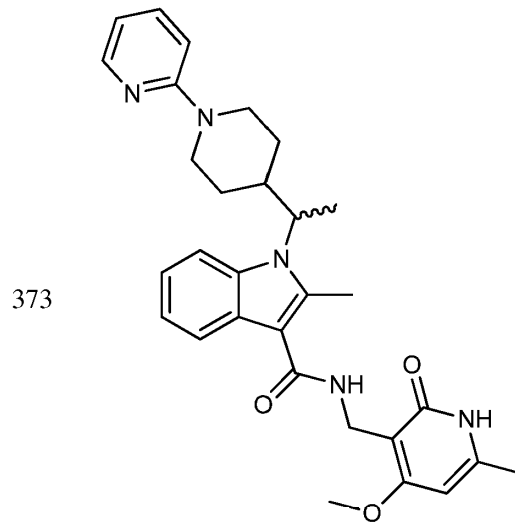


FIG. 1

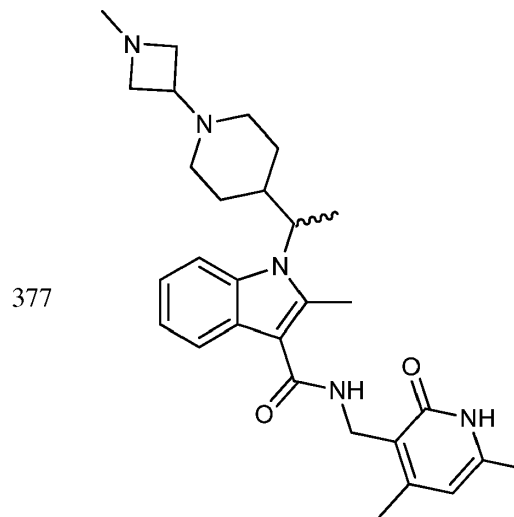
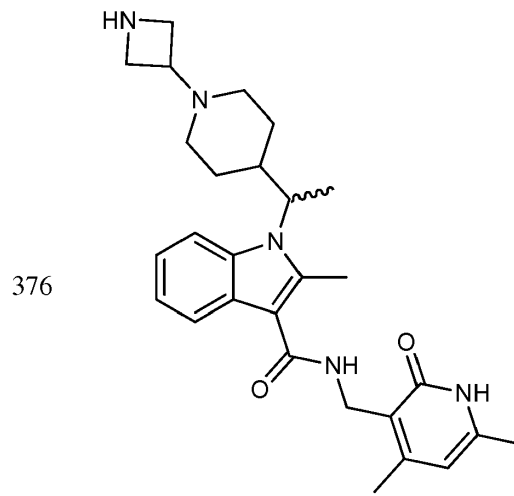


FIG. 1

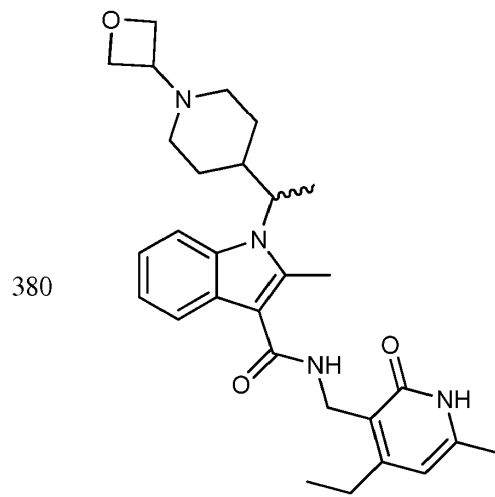
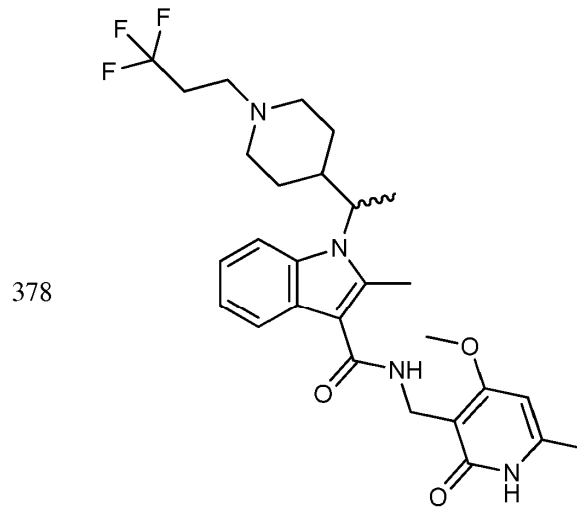


FIG. 1

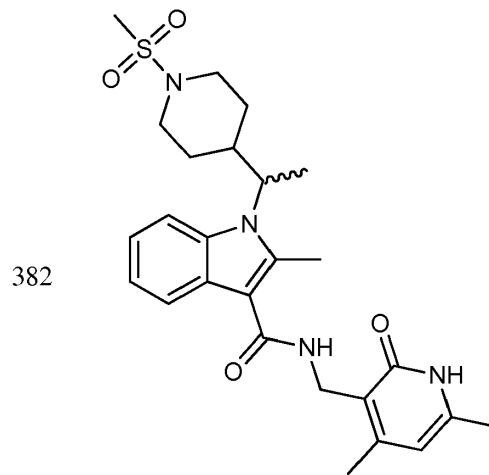
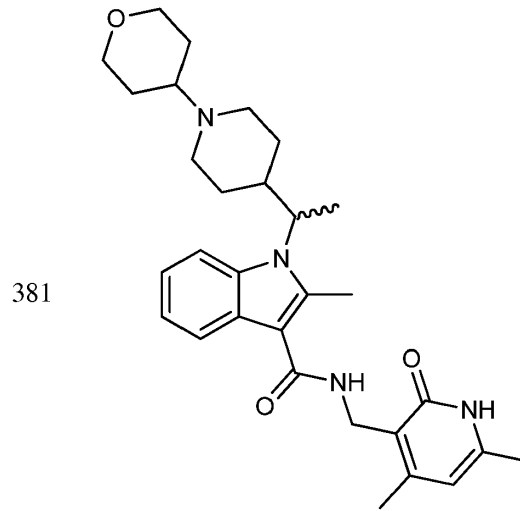


FIG. 1

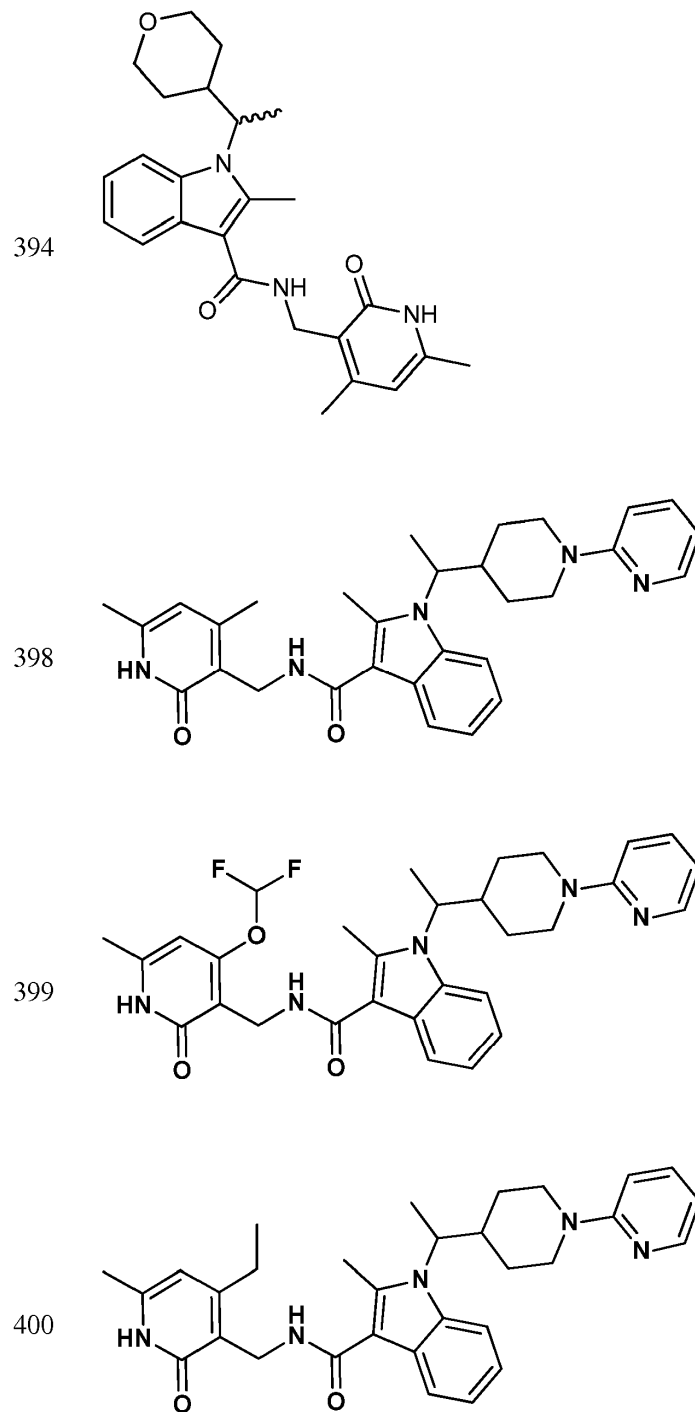


FIG. 1

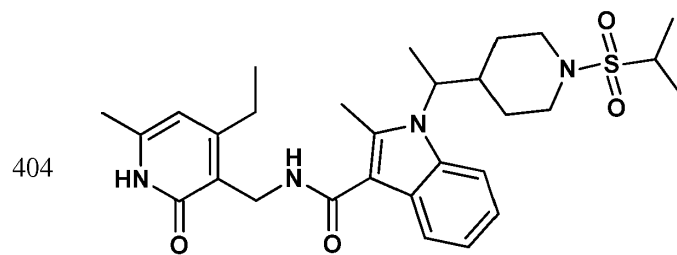
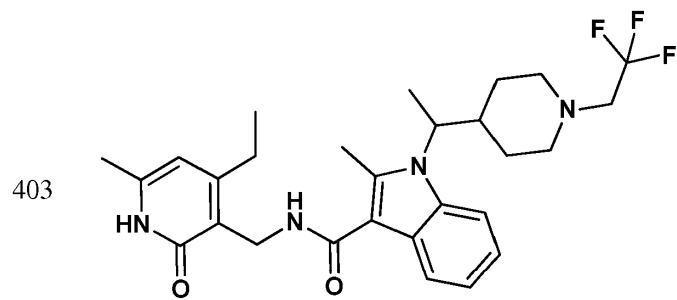
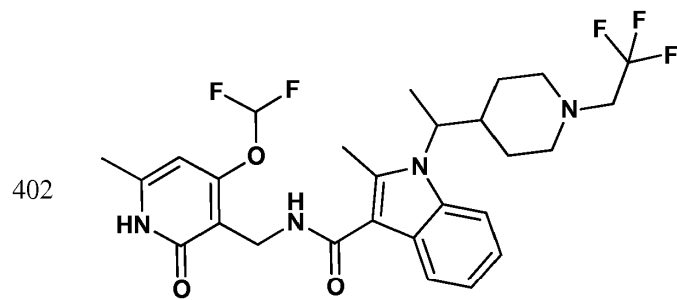
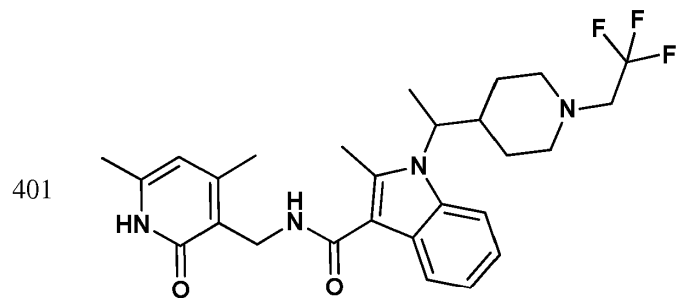


FIG. 1

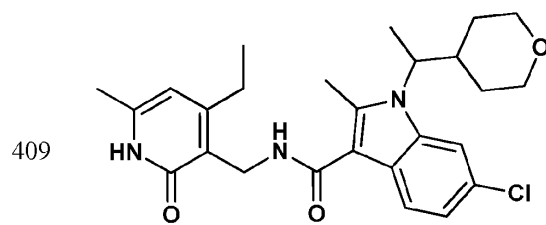
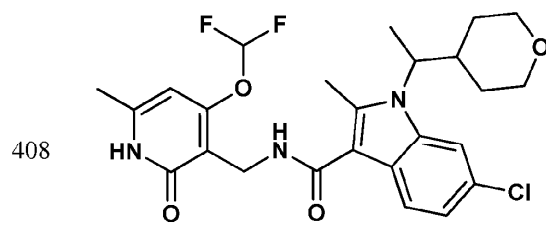
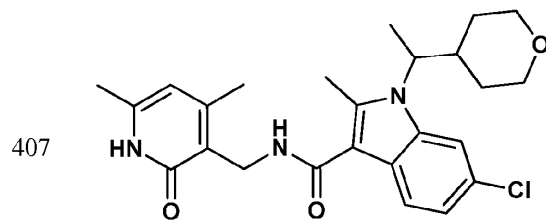
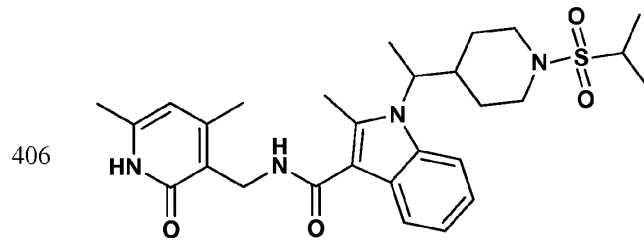
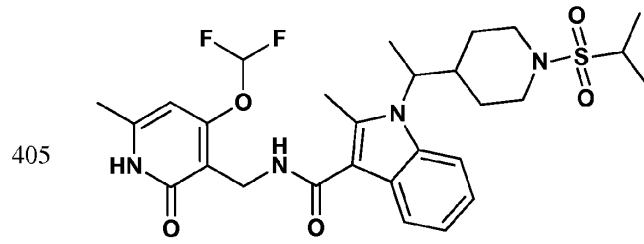


FIG. 1

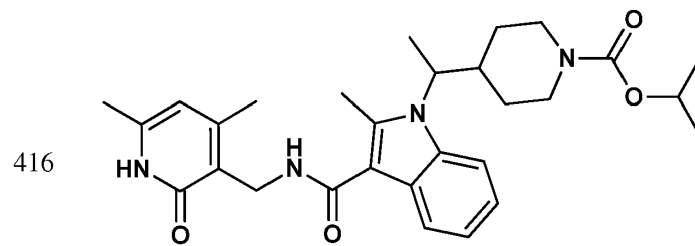
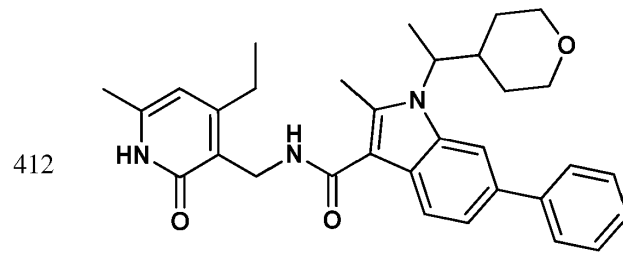
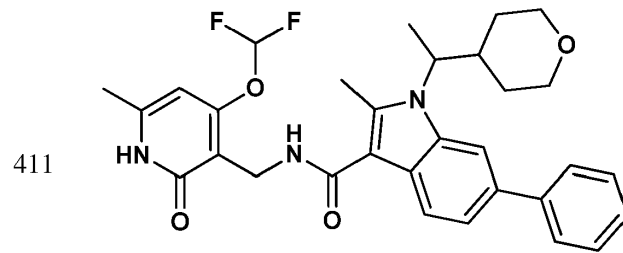
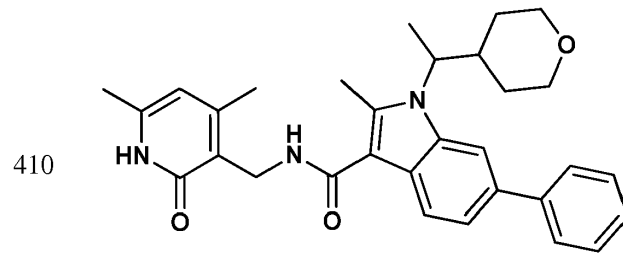


FIG. 1

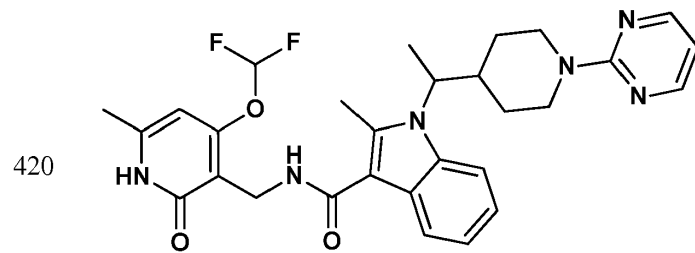
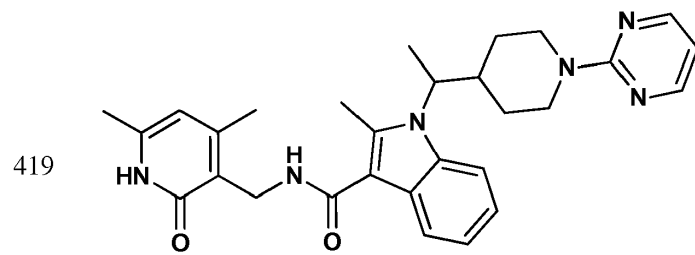
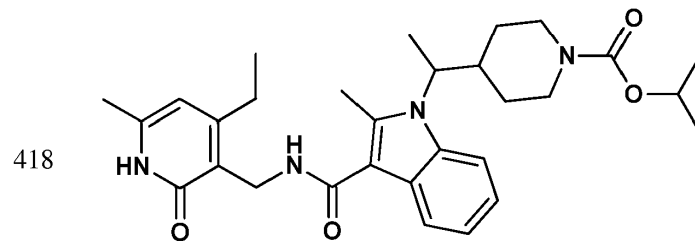
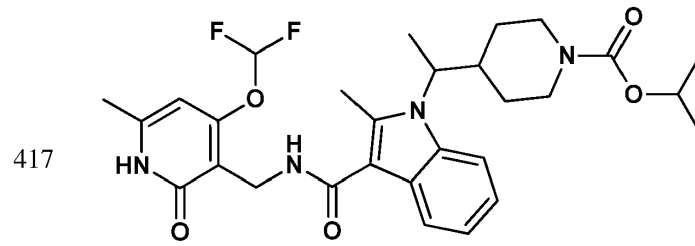


FIG. 1

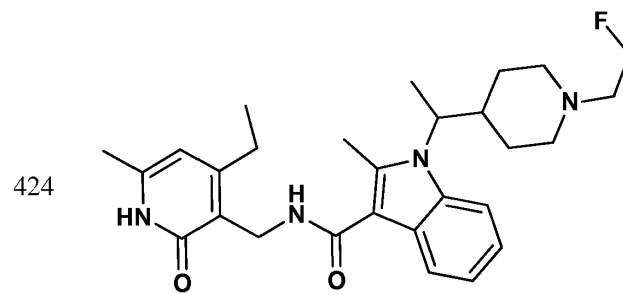
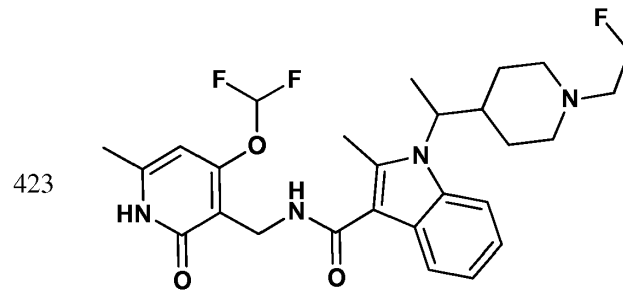
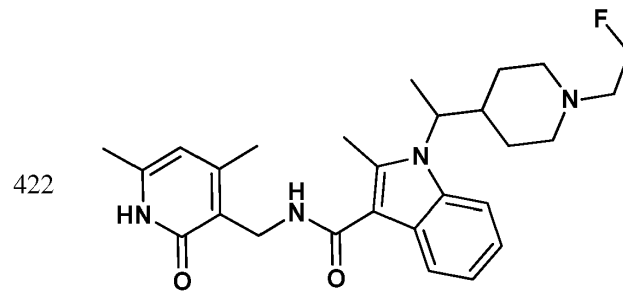
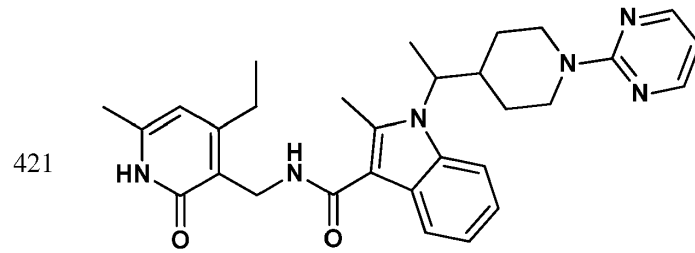


FIG. 1

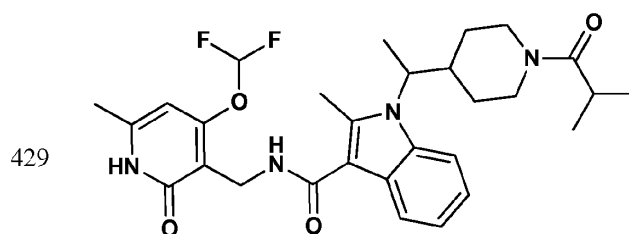
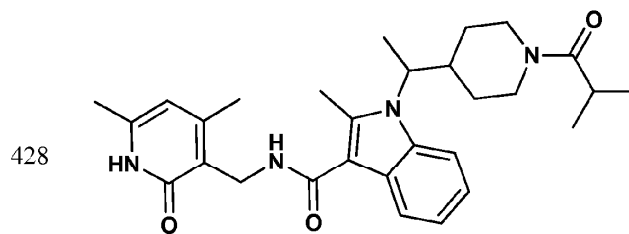
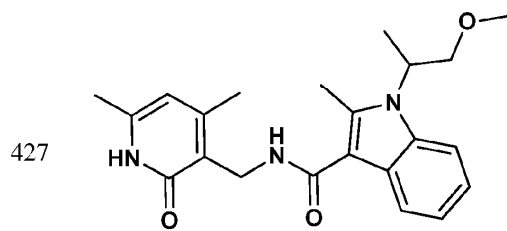
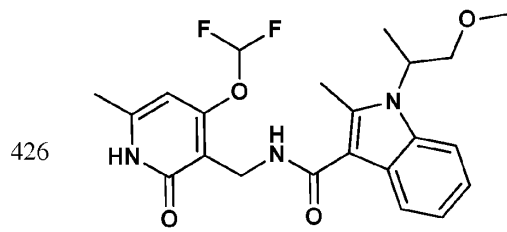
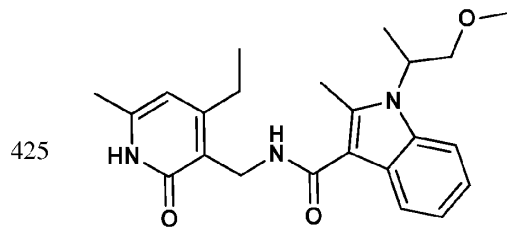


FIG. 1

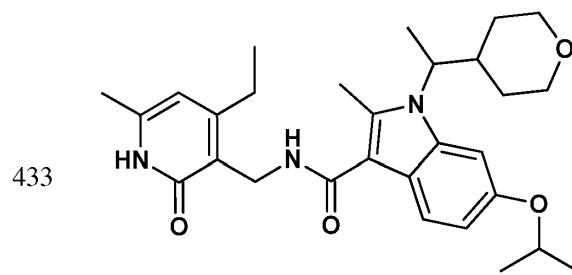
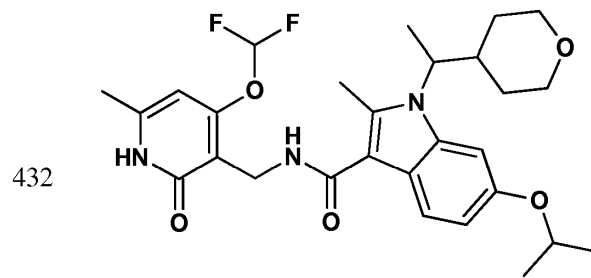
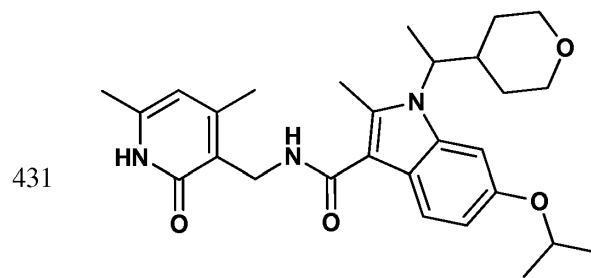
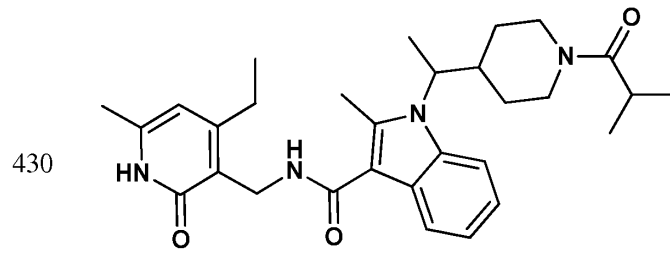


FIG. 1

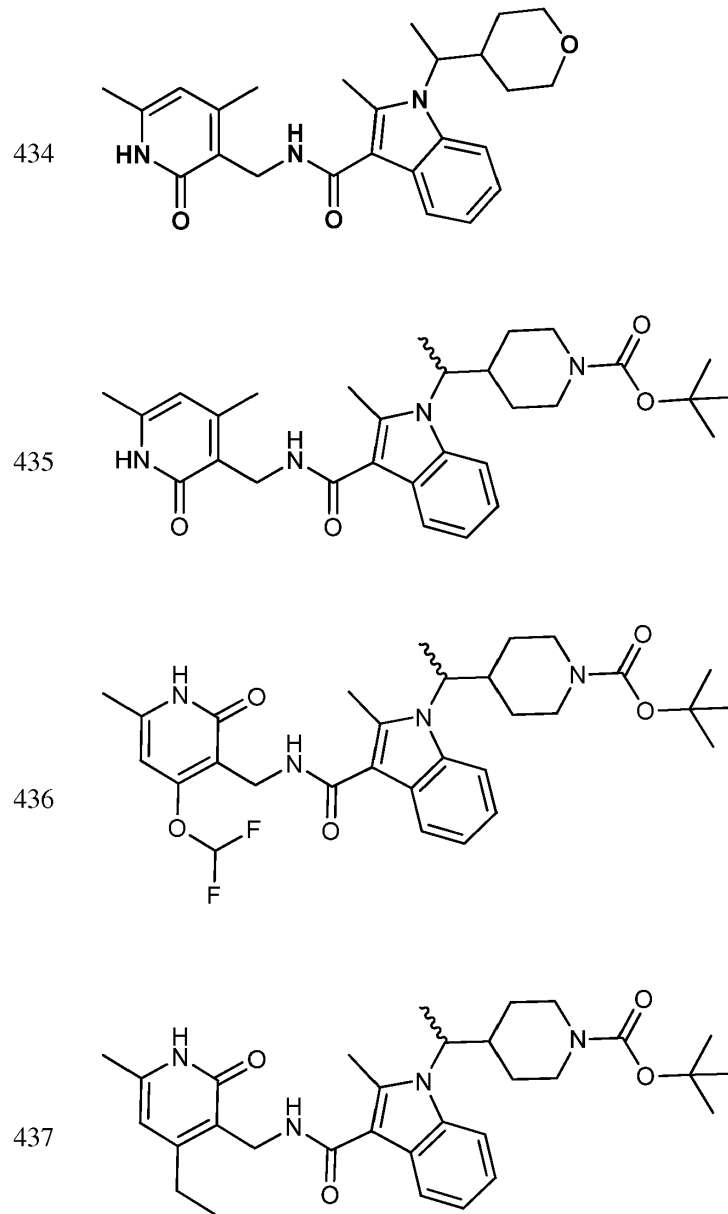


FIG. 1

