

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 637 595**

51 Int. Cl.:

C07D 471/04 (2006.01)
A61K 31/4745 (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)
A61P 9/10 (2006.01)
A61P 3/06 (2006.01)
A61P 31/12 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **19.04.2012 PCT/EP2012/057114**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **26.10.2012 WO12143416**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.04.2012 E 12716379 (8)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.05.2017 EP 2699573**

54 Título: **Derivados de 7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-8-(metiloxi)-1H-imidazo[4,5-c]quinolina**

30 Prioridad:

21.04.2011 GB 201106799

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
13.10.2017

73 Titular/es:

**GLAXOSMITHKLINE LLC (100.0%)
251 Little Falls Drive
Wilmington, Delaware 19808, US**

72 Inventor/es:

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

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 637 595 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

Derivados de 7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-8-(metiloxi)-1H-imidazo[4,5-c]quinolina

Campo de la invención

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

Antecedentes de la invención

10 Los genomas de los organismos eucariotas están altamente organizados en el interior del núcleo de la célula. Las cadenas largas de ADN dúplex están envueltas alrededor de un octómero de proteínas de histona (que normalmente comprende dos copias de histonas H2A, H2B H3 y H4) para formar un nucleosoma. A continuación, esta unidad básica se comprime adicionalmente mediante la agregación y el plegado de los nucleosomas para formar una estructura de cromatina altamente condensada. Son posibles una gama de diferentes estados de condensación, y la tensión u opresión de esta estructura varía durante el ciclo celular, siendo más compacta durante el proceso de división celular. La estructura de la cromatina desempeña un papel crítico en la regulación de la transcripción génica, que no puede ocurrir de manera eficiente a partir de la cromatina altamente condensada. La estructura de la cromatina está controlada por una serie de modificaciones postraduccionales de las proteínas histonas, en particular las histonas H3 y H4, y más comúnmente dentro de las colas de las histonas que se extienden más allá de la estructura nucleosómica del núcleo. Estas modificaciones incluyen acetilación, metilación, fosforilación, ubiquitinilación, SUMOilación. Estas marcas epigenéticas son escritas y borradas por enzimas específicas, que colocan las etiquetas en residuos específicos dentro de la cola de la histona, formando de esta manera un código epigenético, que a continuación es interpretado por la célula para permitir una regulación específica del gen de la estructura de la cromatina y, por lo tanto, la transcripción.

15 La acetilación de histonas se asocia, en la mayoría de los casos, con la activación de la transcripción génica, ya que la modificación afloja la interacción del ADN y el octómero de las histonas cambiando la electrostática. Además de este cambio físico, proteínas específicas se unen a los residuos de lisina acetilada dentro de las histonas para leer el código epigenético. Los bromodominios son pequeños dominios distintos (~ 110 aminoácidos) dentro de las proteínas que se unen comúnmente a los residuos de lisina acetilada, pero no exclusivamente en el contexto de las histonas. Hay una familia de aproximadamente 50 proteínas que se conoce que contienen bromodominios, y tienen una gama de funciones dentro de la célula.

20 La familia BET de proteínas que contienen bromodominios comprende 4 proteínas (BRD2, BRD3, BRD4 y BRD-t) que contienen bromodominios en tándem capaces de unirse a dos residuos de lisina acetilados en estrecha proximidad, aumentando la especificidad de la interacción. Se ha informado de que BRD2 y BRD3 se asocian con histonas a lo largo de genes transcritos activamente y pueden estar implicadas en facilitar la elongación transcripcional (Leroy et al, Mol. Celda. 200830 (1):51-60), mientras que BRD4 parece estar implicada en la captación del complejo pTEF-β a genes inducibles, resultando en la fosforilación de la ARN polimerasa y una mayor producción transcripcional (Hargreaves et al, Cell, 2009 138 (1): 129-145). Se ha informado también de que BRD4 o BRD3 pueden fusionarse con NUT (proteína nuclear en los testículos) formando nuevos oncogenes de fusión, BRD4-NUT o BRD3-NUT, en una forma altamente maligna de neoplasia epitelial (French et al. Cancer Research, 2003, 63, 304-307 y French et al. Journal of Clinical Oncology, 2004, 22 (20), 4135-4193). Los datos sugieren que las proteínas de fusión BRD-NUT contribuyen a la carcinogénesis (Oncogene, 2008, 27, 2237-2242). La BRD-t se expresa únicamente en los testículos y en el ovario. Se ha informado de que todos los miembros de la familia tienen alguna función en el control o en la ejecución de aspectos del ciclo celular, y se ha demostrado que permanecen en complejo con los cromosomas durante la división celular (lo que sugiere un papel en el mantenimiento de la memoria epigenética). Además, algunos virus hacen uso de estas proteínas para fijar sus genomas a la cromatina de la célula huésped, como parte del proceso de replicación viral (You et al Cell, 2004 117(3): 349-60).

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

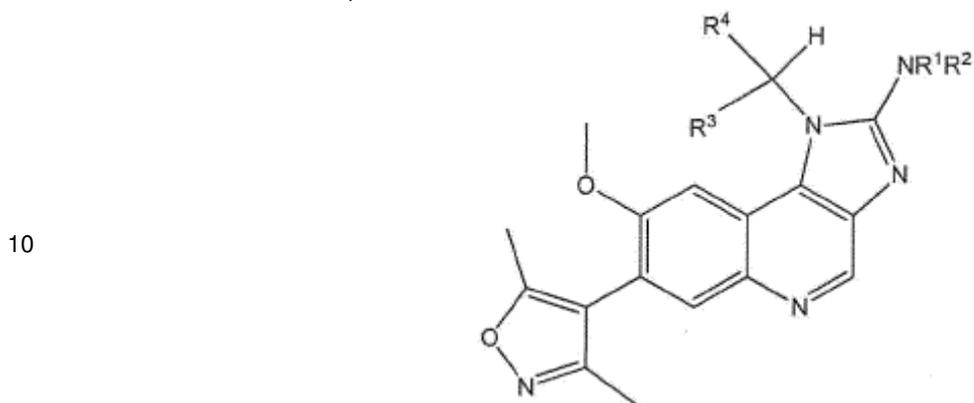
La solicitud de patente WO2009084693A1 divulga una serie de derivados de tienotriazolodiazepieno que se dice que inhiben la unión entre una histona acetilada y una proteína que contiene bromodominio, que se dice que son útiles como agentes anticancerígenos.

30 La solicitud de patente PCT PCT/EP2010/066699 divulga una serie de derivados de quinolina que inhiben la unión de los bromodominios de la familia BET con residuos de lisina acetilados. Los documentos WO2007/075468 y WO2004/058759 divulgan imidazoquinolinas útiles como modificadores de la respuesta inmune. Se ha encontrado una clase novedosa de compuestos que inhiben la unión de los bromodominios con sus proteínas acetiladas

análogas, más particularmente una clase de compuestos que inhiben la unión de bromodominios de la familia BET a residuos de lisina acetilados. En adelante, dichos compuestos se denominarán "inhibidores de bromodominio".

Sumario de la invención

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



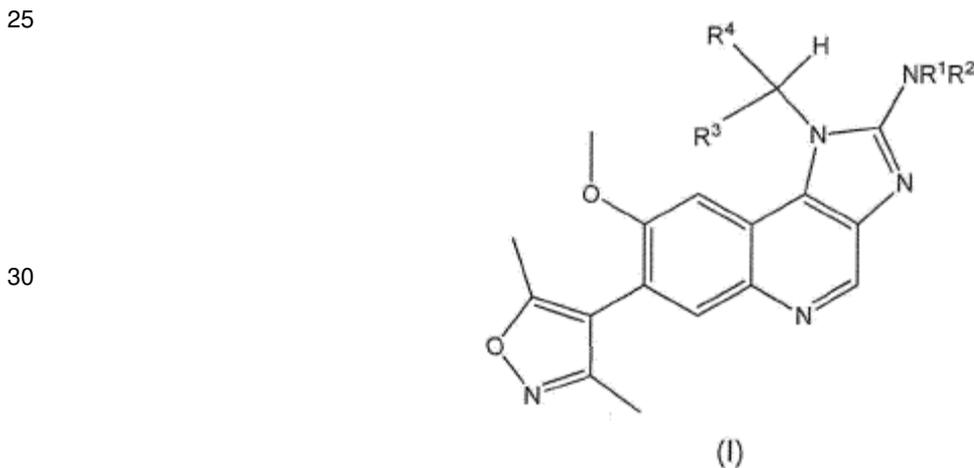
15 En un segundo aspecto de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables.

En un tercer aspecto de la presente invención, se proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en terapia, en particular en el tratamiento de enfermedades o afecciones para las que está indicado un inhibidor de bromodominio.

20 En un cuarto aspecto de la presente invención, se proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades o afecciones para las que está indicado un inhibidor de bromodominio.

Descripción detallada de la intención

25 La presente invención se refiere a compuestos de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos



35 en la que:

R¹ es hidrógeno o alquilo C₁₋₃ y R² se selecciona de entre

- alquilo C₁₋₆; y
- alquilo C₂₋₆ sustituido con hidroxilo, alcoxi C₁₋₄ o un grupo NR^aR^b en la que R^a y R^b son independientemente hidrógeno o alquilo C₁₋₄, o R^a y R^b se combinan junto con el N al que están unidos para formar un anillo heterociclilo;

40

o

R¹ y R² se combinan junto con el N al que están unidos para formar un anillo heterociclilo;

R³ es hidrógeno, alquilo C₁₋₃ o CH₂OH;

R⁴ se selecciona de entre

- 5
- un grupo fenilo opcionalmente sustituido con alquilo C₁₋₄, CF₃, halógeno, hidroxilo o alcoxi C₁₋₄;
 - un grupo heteroaromático opcionalmente sustituido con alquilo C₁₋₄, CF₃, halógeno, hidroxilo o alcoxi C₁₋₄;
 - un grupo tetrahidropiraniilo;
 - un grupo tetrahidrofuraniilo;
 - un grupo cicloalquilo C₃₋₇; y
- 10
- un grupo CH₂OMe.

En una realización, R¹ y R² se combinan junto con el N al que están unidos para formar un anillo piperidinilo o morfolinilo.

En una realización adicional, R¹ es hidrógeno y R² es alquilo C₁₋₄ (tal como metilo, etilo, isopropilo o isobutilo).

15 En una realización adicional, R¹ es hidrógeno y R² es alquilo C₂₋₄ (tal como metilo o etilo) sustituido con hidroxilo o metoxi.

En una realización adicional, R¹ es hidrógeno y R² es alquilo C₂₋₄ (tal como etilo) sustituido por NR^aR^b, en la que R^a y R^b son ambos hidrógeno o R^a y R^b se combinan junto con el N al que están unidos forman un anillo morfolinilo.

En una realización, R³ es hidrógeno y R⁴ es tetrahidropiraniilo.

En una realización adicional, R³ es hidrógeno o metilo y R⁴ es piridilo (tal como 2-piridilo).

20 En una realización adicional, R³ es hidrógeno o metilo y R⁴ es pirazolilo opcionalmente sustituido con alquilo C₁₋₄.

En una realización adicional, R³ es hidrógeno o metilo y R⁴ es fenilo.

En una realización adicional, R³ es metilo y R⁴ es un grupo -CH₂OMe.

25 Tal como se usa en la presente memoria, el término "sustituido" se refiere a sustitución con el sustituyente o los sustituyentes indicados, permitiéndose múltiples grados de sustitución, a menos que se indique lo contrario. Cuando el sustituyente está en un anillo que comprende un heteroátomo, el sustituyente puede estar situado en un carbono o un heteroátomo, si este último es apropiado.

Aunque las realizaciones para cada variable han sido enumeradas generalmente por separado para cada variable, se pretende que la presente invención incluya todas las combinaciones de las realizaciones descritas anteriormente, incluyendo sus sales.

30 Los compuestos particulares según la invención son:

2-({7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-8-(metiloxi)-1-[(1R)-1-feniletil]-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-il}amino)etanol;

2-[[7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-8-(metiloxi)-1-(tetrahydro-2H-piran-4-ilmetil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-il]amino]etanol;

7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-8-(metiloxi)-1-(tetrahydro-2H-piran-4-ilmetil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-amina;

35 7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-N-etil-8-metoxi-1-(1-metoxipropan-2-il)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-amina;

N1-(7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-8-metoxi-1-((tetrahydro-2H-piran-4-il)metil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-il)etan-1,2-diamina;

7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-8-(metiloxi)-N-[2-(4-morfolinil)etil]-1-(tetrahydro-2H-piran-4-ilmetil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-amina;

7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-8-(metiloxi)-N-[2-(metiloxi)etil]-1-(tetrahydro-2H-piran-4-ilmetil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-amina;

7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-N-etil-1-[1-metil-2-(metiloxi)etil]-8-(metiloxi)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-amina;

5 N-[7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-1-[1-metil-2-(metiloxi)etil]-8-(metiloxi)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-il]-1,2-etanediamina;

7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-1-[1-metil-2-(metiloxi)etil]-8-(metiloxi)-N-[2-(4-morfolinil)etil]-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-amina;

7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-1-[1-metil-2-(metiloxi)etil]-8-(metiloxi)-N-[2-(metiloxi)etil]-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-amina;

10 7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-8-(metiloxi)-N-[2-(metiloxi)etil]-1-(2-piridinilmetil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-amina;

7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-8-(metiloxi)-2-(4-morfolinil)-1-[(1R)-1-feniletil]-1H-imidazo[4,5-c]quinolina;

7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-8-(metiloxi)-1-[(1R)-1-feniletil]-2-(1-piperidinil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolina;

7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-8-(metiloxi)-2-(4-morfolinil)-1-(tetrahydro-2H-piran-4-ilmetil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolina;

7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-N-etil-8-metoxi-1-(1-(1-metil-1H-pirazol-4-il)etil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-amina;

15 7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-8-metoxi-N,N-dimetil-1-((tetrahydro-2H-piran-4-il)metil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-amina; y

7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-8-metoxi-N-(2-metoxietil)-1-((R)-1-(piridin-2-il)etil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-amina

o una sal de los mismos.

En la presente memoria descriptiva, a menos que se indique lo contrario:

- 20
- El término "halógeno" se usa para describir un grupo seleccionado de entre flúor, cloro o bromo;
 - Los términos "alquilo C₁₋₃", "alquilo C₁₋₄" y "alquilo C₁₋₆" se usan para describir un grupo o una parte del grupo que comprende un grupo alquilo lineal o ramificado que contiene de 1 a 3, de 1 a 4 o de 1 a 6 átomos de carbono, respectivamente. Otras referencias deben ser interpretadas de manera similar. Los ejemplos adecuados de dichos grupos incluyen metilo, etilo, propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, t-butilo, pentilo y hexilo;
- 25
- El término "alcoxi C₁₋₄" incluye ejemplos tales como metoxi, etoxi, propiloxi, isopropiloxi, n-butiloxi, isobutiloxi y t-butiloxi;
 - El término "cicloalquilo C₃₋₇" se usa para describir un anillo carbocíclico no aromático que contiene al menos tres y como máximo siete átomos de carbono. Los ejemplos de cicloalquilo C₃₋₇ incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo y cicloheptilo.
- 30
- Tal como se usa en la presente memoria, el término "grupo heteroaromático" se refiere a un grupo aromático monocíclico de 5 o 6 miembros en el que 1, 2, 3, 4 de los átomos de carbono están reemplazados por un heteroátomo seleccionado independientemente de entre O, S y N; o a un grupo aromático bicíclico de 8 a 11 miembros en el que 1, 2, 3, 4 o 5 de los átomos de carbono están reemplazados por un heteroátomo seleccionado independientemente de entre O, S y N. Los ejemplos de grupos heteroaromáticos monocíclicos de 5 o 6 miembros incluyen pirrolinilo, furanilo, tienilo, pirrolilo, oxazolilo, tiazolilo, imidazolilo, oxadiazolilo, tiadiazolilo, piridinilo, triazolilo, triazinilo, piridazilo, pirimidinilo, isotiazolilo, isoxazolilo, pirazinilo, pirazolilo y pirimidinilo. Los ejemplos de grupos heteroaromáticos bicíclicos de 8 a 11 miembros incluyen 6H-tieno[2,3-b]pirrolilo, imidazo[2,1-b][1,3]tiazolilo, imidazo[5,1-b][1,3]tiazolilo, indolilo, isoindolilo, indazolilo, bencimidazolilo, [1,3]tiazolo[3,2-b][1,2,4]triazolilo, benzoxazolilo, por ejemplo, benzoxazol-2-ilo, benzisoxazolilo, benzotiazolilo, benzoisotiazolilo, benzotienilo, benzofuranilo, naftridinilo, quinolilo, quinoxalinilo, quinazolinilo, cinolinilo e isoquinolilo.
- 35
- Tal como se usa en la presente memoria, el término "heterociclilo" o "anillo heterociclilo" se refiere a un anillo no aromático, saturado, de 4-7 miembros, que comprende 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados de entre O, N y S. Los ejemplos de dichos grupos incluyen pirrolidinilo, morfolinilo, piperidinilo y piperazinilo.
- 40
- 45

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

5 Debido a su posible uso en medicina, idealmente, las sales de los compuestos de fórmula (I) son farmacéuticamente aceptables. Las sales farmacéuticamente aceptables adecuadas pueden incluir sales de adición de ácido o de base. Tal como se usa en la presente memoria, la expresión "sal farmacéuticamente aceptable" significa cualquier sal o solvato farmacéuticamente aceptable de un compuesto de fórmula (I) que, tras ser administrada al receptor, es capaz de proporcionar (directa o indirectamente). En una realización, la expresión "sal farmacéuticamente aceptable" significa cualquier sal farmacéuticamente aceptable de un compuesto de fórmula (I),
10 que, tras ser administrada al receptor, es capaz de proporcionar (directa o indirectamente). Para una revisión acerca de las sales adecuadas, véase Berge et al., J. Pharm. Sci., 66:1-19, (1977). Típicamente, una sal farmacéuticamente aceptable puede prepararse fácilmente usando un ácido o base deseados según sea apropiado. La sal resultante puede precipitarse de la solución y puede recogerse mediante filtración o puede recuperarse mediante evaporación del disolvente.

15 Una sal de adición de base farmacéuticamente aceptable puede formarse mediante reacción de un compuesto de fórmula (I) con una base inorgánica u orgánica adecuada (por ejemplo, trietilamina, etanolamina, trietanolamina, colina, arginina, lisina o histidina), opcionalmente en un disolvente adecuado, para dar la sal de adición de base que es aislada normalmente, por ejemplo, mediante cristalización y filtración. Las sales de bases farmacéuticamente aceptables incluyen sales de amonio, sales de metales alcalinos tales como sales de sodio y potasio, sales de metales alcalinotérreos tales como sales de calcio y magnesio y sales con bases orgánicas, incluyendo sales de aminas primarias, secundarias y terciarias tales como isopropilamina, dietilamina, etanolamina, trimetilamina, dicitlohexilamina y N-metil-D-glucamina.
20

Una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable puede formarse mediante reacción de un compuesto de fórmula (I) con un ácido inorgánico u orgánico adecuado (tal como ácido bromhídrico, clorhídrico, sulfúrico, nítrico, fosfórico, succínico, maleico, acético, propiónico, fumárico, cítrico, tartárico, láctico, benzoico, salicílico, glutamático, aspártico, p-toluenosulfónico, bencenosulfónico, metanosulfónico, etanosulfónico, naftalensulfónico tal como ácido 2-naftalensulfónico o hexanoico), opcionalmente en un disolvente adecuado tal como un disolvente orgánico, para dar la sal que se aísla normalmente, por ejemplo, mediante cristalización y filtración. Una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable de un compuesto de fórmula (I) puede comprender o puede ser, por ejemplo, un
25 bromhidrato, clorhidrato, sulfato, nitrato, fosfato, succinato, maleato, acetato, propionato, fumarato, citrato, tartrato, lactato, benzoato, salicilato, glutamato, aspartato, p-toluenosulfonato, bencenosulfonato, metanosulfonato, etanosulfonato, naftalenosulfonato (por ejemplo, 2-naftalenosulfonato) o hexanoato.
30

Pueden usarse otras sales no farmacéuticamente aceptables, por ejemplo, formiatos, oxalatos o trifluoroacetatos, por ejemplo, en el aislamiento de los compuestos de fórmula (I), y están incluidos dentro del ámbito de la presente invención.
35

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

Se apreciará que muchos compuestos orgánicos pueden formar complejos con disolventes en los que se hacen reaccionar o a partir de los que se precipitan o cristalizan. Estos complejos se conocen como "solvatos". Por ejemplo, un complejo con agua se conoce como un "hidrato". Pueden usarse disolventes con altos puntos de ebullición y/o capaces de formar enlaces de hidrógeno tales como agua, xileno, N-metilpirrolidiona, metanol y etanol para formar solvatos. Los procedimientos para la identificación de solvatos incluyen, pero no se limitan a, RMN y microanálisis. Los solvatos de los compuestos de fórmula (I) están dentro del ámbito de la invención.
40

La invención incluye dentro de su ámbito todas las formas estequiométricas y no estequiométricas posibles de los solvatos de los compuestos de fórmula (I).
45

Los compuestos de fórmula (I) pueden estar en forma cristalina o amorfa. Además, algunas de las formas cristalinas de los compuestos de fórmula (I) pueden existir como polimorfos, que están incluidos dentro del ámbito de la presente invención. Las formas polimórficas de los compuestos de fórmula (I) pueden caracterizarse y diferenciarse usando una serie de técnicas analíticas convencionales, incluyendo, pero sin limitarse a, patrones de difracción de rayos X en polvo (XRPD), espectros infrarrojos (IR), espectros Raman, calorimetría diferencial de barrido (DSC), análisis termogravimétrico (TGA) y resonancia magnética nuclear de estado sólido (SSNMR).
50

Ciertos compuestos descritos en la presente memoria pueden contener uno o más átomos quirales de manera que puedan formarse isómeros ópticos, por ejemplo, enantiómeros o diastereoisómeros. Por consiguiente, la presente invención abarca todos los isómeros de los compuestos de fórmula (I), bien como isómeros individuales aislados de manera que estén sustancialmente libres del otro isómero (es decir, puros) o bien como mezclas (es decir, racematos y mezclas racémicas). Un isómero individual aislado de manera que quede sustancialmente libre del otro
55

isómero (es decir, puro) puede ser aislado de manera que haya presente menos del 10%, particularmente menos de aproximadamente el 1%, por ejemplo, menos de aproximadamente el 0,1%, del otro isómero.

La separación de los isómeros puede conseguirse mediante técnicas convencionales conocidas por las personas con conocimientos en la materia, por ejemplo, mediante cristalización fraccionada, cromatografía o HPLC.

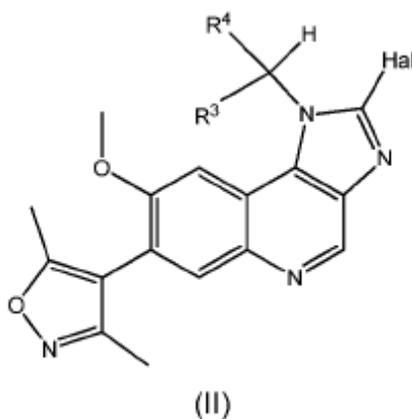
5 Ciertos compuestos de fórmula (I) pueden existir en una de diversas formas tautómeras. Se entenderá que la presente invención abarca todos los tautómeros de los compuestos de fórmula (I), bien como tautómeros individuales o bien como mezclas de los mismos.

A partir de lo indicado anteriormente, se apreciará que dentro del ámbito de la invención se incluyen los solvatos, isómeros y las formas polimórficas de los compuestos de fórmula (I) y sus sales.

10 Los compuestos de fórmula (I) o sus sales pueden prepararse mediante una diversidad de procedimientos, incluyendo la química estándar. Cualquier variable definida previamente continuará teniendo el significado definido previamente, a menos que se indique lo contrario. A continuación, se exponen procedimientos sintéticos ilustrativos generales y, a continuación, se preparan compuestos específicos de fórmula (I) y sus sales farmacéuticamente aceptables en los ejemplos de trabajo. Estos procedimientos forman aspectos adicionales de la presente invención.

15 En un aspecto adicional, se proporciona un procedimiento de preparación de un compuesto de fórmula (I) que comprende un procedimiento seleccionado de entre (a), (b), (c), (d) y (e) en el que

(a) comprende hacer reaccionar un compuesto de fórmula (II)

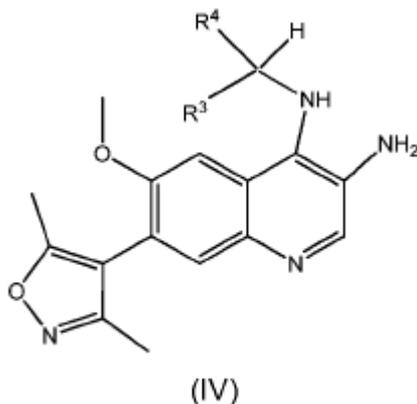


en la que R^3 y R^4 son tal como se han definido en la fórmula (I) y Hal es halógeno con un compuesto de fórmula (III)



30 en la que R^1 y R^2 son tal como se han definido en la fórmula (I).

(b) comprende hacer reaccionar un compuesto de fórmula (IV)



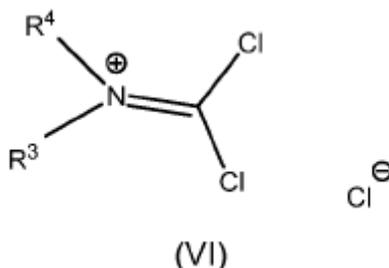
en la que R^3 y R^4 son tal como se han definido en la fórmula (I) con un compuesto de fórmula



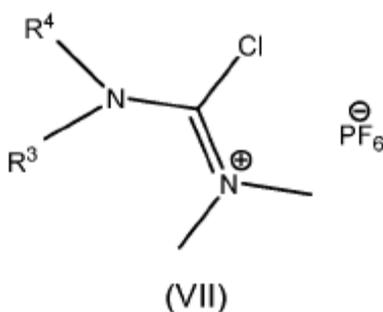
en la que R^1 y R^2 son tal como se han definido en la fórmula (I);

(c) cuando NR^1R^2 es NH_2 , hacer reaccionar un compuesto de fórmula (IV) con bromuro de cianógeno;

5 (d) comprende hacer reaccionar un compuesto de fórmula (IV) tal como se ha definido anteriormente con un compuesto de fórmula (VI)



(e) comprende hacer reaccionar un compuesto de fórmula (IV) tal como se ha definido anteriormente con un compuesto de fórmula (VII)



20 Procedimiento (a)

Un grupo Hal apropiado es cloro. La reacción entre el compuesto de fórmula (II) y la fórmula (III) puede llevarse a cabo en un disolvente inerte opcionalmente en presencia de una base.

25 Los compuestos de fórmula (II) pueden prepararse mediante procedimientos descritos en la presente memoria o mediante procedimientos análogos a los mismos. Los compuestos de fórmula (III) están disponibles comercialmente.

Procedimiento (b)

30 La reacción entre el compuesto de fórmula (IV) y el compuesto de fórmula (V) puede llevarse a cabo en un disolvente inerte (tal como metanol). Los compuestos de fórmula (IV) pueden prepararse mediante los procedimientos descritos en la presente memoria o mediante procedimientos análogos a los mismos. Los compuestos de fórmula (V) están disponibles comercialmente.

Procedimiento (c)

35 La reacción entre el compuesto de fórmula (IV) y el compuesto de fórmula (V) puede llevarse a cabo en un disolvente inerte (tal como etanol). Los compuestos de fórmula (IV) pueden prepararse mediante procedimientos descritos en la presente memoria o mediante procedimientos análogos a los mismos. El bromuro de cianógeno está disponible comercialmente.

Procedimiento (d)

40 La reacción entre el compuesto de fórmula (IV) y el compuesto de fórmula (VI) puede llevarse a cabo en un disolvente inerte (tal como acetonitrilo). Los compuestos de fórmula (IV) pueden prepararse mediante

procedimientos descritos en la presente memoria o mediante procedimientos análogos a los mismos. Los compuestos de fórmula (VI) están disponibles comercialmente.

Procedimiento (e)

5 La reacción entre el compuesto de fórmula (IV) y el compuesto de fórmula (VII) puede llevarse a cabo en un disolvente inerte (tal como etanol). Los compuestos de fórmula (VII) pueden prepararse mediante procedimientos descritos en Eur. J. Org. Chem. 2010 (19) 3641-3649.

10 Las personas con conocimientos en la materia apreciarán que puede ser ventajoso proteger uno o más grupos funcionales de los compuestos descritos anteriormente. Los ejemplos de grupos protectores y los medios para su eliminación pueden encontrarse en T. W. Greene "Protective Groups in Organic Synthesis" (4ª edición, J. Wiley and Sons, 2006). Los grupos protectores de amina adecuados incluyen acilo (por ejemplo, acetilo, carbamato (por ejemplo, 2',2',2'-tricloroetoxicarbonilo, benciloxicarbonilo o t-butoxicarbonilo) y arilalquilo (por ejemplo, bencilo), que puede eliminarse mediante hidrólisis (por ejemplo, usando un ácido, tal como ácido clorhídrico en dioxano o ácido trifluoroacético en diclorometano) o reductivamente (por ejemplo, hidrogenólisis de un grupo bencilo o benciloxicarbonilo o eliminación reductora de un grupo 2',2',2'-tricloroetoxicarbonilo usando zinc en ácido acético) según sea apropiado. Otros grupos protectores de amina adecuados incluyen trifluoroacetilo (-COCF₃) que puede eliminarse mediante hidrólisis catalizada por una base.

20 Se apreciará que, en cualquiera de las rutas descritas anteriormente, puede variarse el orden preciso de las etapas sintéticas mediante las cuales se introducen los diversos grupos y restos en la molécula. Estará dentro de la habilidad del experto en la técnica asegurar que grupos o restos introducidos en una etapa del procedimiento no se verán afectados por transformaciones y reacciones posteriores, y seleccionar el orden de las etapas sintéticas en consecuencia.

Se cree que ciertos compuestos intermedios descritos anteriormente son novedosos y, por lo tanto, forman un aspecto adicional de la invención.

25 Los compuestos de fórmula (I) y sus sales son inhibidores de bromodominio y, de esta manera, se cree que tienen utilidad potencial en el tratamiento de enfermedades o afecciones para las cuales está indicado un inhibidor de bromodominio.

30 La presente invención proporciona de esta manera un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en terapia. El compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéutica de la misma puede usarse en el tratamiento de enfermedades o afecciones para las cuales está indicado un inhibidor de bromodominio.

35 De esta manera, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de cualquier enfermedad o afección para la cual esté indicado un inhibidor de bromodominio. En otra realización, se proporciona un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de afecciones autoinmunes y/o inflamatorias crónicas. En una realización adicional, se proporciona un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento del cáncer.

Se proporciona también el uso de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades o afecciones para las cuales está indicado un inhibidor de bromodominio.

40 Se describe también un procedimiento para tratar enfermedades o afecciones para las cuales esté indicado un inhibidor de bromodominio en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

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

45 Tal como se usa en la presente memoria, la expresión "cantidad eficaz" significa la cantidad de un fármaco o un agente farmacéutico que provocará la respuesta biológica o médica de un tejido, sistema, animal o ser humano que busca, por ejemplo, un investigador o un clínico. Además, la expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" significa cualquier cantidad que, en comparación con un sujeto correspondiente que no ha recibido dicha cantidad, resulta en un tratamiento, curación, prevención o mejoría, mejorados, de una enfermedad, trastorno o efecto secundario, o una disminución en la tasa de avance de una enfermedad o un trastorno. La expresión incluye también dentro de su ámbito cantidades eficaces para mejorar la función fisiológica normal.

50 Se cree que los inhibidores de bromodominio son útiles en el tratamiento de una diversidad de enfermedades o afecciones relacionadas con la inflamación sistémica o tisular, respuestas inflamatorias a infección o hipoxia,

activación y proliferación celular, metabolismo lipídico, fibrosis y en la prevención y el tratamiento de infecciones virales.

5 Los inhibidores de bromodominio pueden ser útiles en el tratamiento de una amplia variedad de enfermedades autoinmunes e inflamatorias crónicas tales como artritis reumatoide, osteoartritis, gota aguda, psoriasis, lupus eritematoso sistémico, esclerosis múltiple, enfermedad inflamatoria intestinal (enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa), asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, neumonitis, miocarditis, pericarditis, miositis, eczema, dermatitis (incluyendo dermatitis atópica), alopecia, vitiligo, enfermedades de la piel ampollosa, nefritis, vasculitis, aterosclerosis, enfermedad de Alzheimer, depresión, síndrome de Sjögren, sialoadenitis, oclusión de la vena retiniana central, oclusión de la ramificación de la vena retiniana, síndrome de Irvine-Gass (post-catarata y post-quirúrgico), retinitis pigmentosa, pars planitis, retinocoroidopatía en perdigonada, membrana epirretiniana, edema macular quístico, telangiectasia parafoveal, maculopatías traccionales, síndromes de tracción vitreomacular, desprendimiento de retina, neurorretinitis, edema macular idiopático, retinitis, ojo seco (queratoconjuntivitis sicca), queratoconjuntivitis vernal, queratoconjuntivitis atópica, uveítis anterior, uveítis pan, uveítis posterior, edema macular asociado a uveítis, escleritis, retinopatía diabética, edema de mácula diabético, distrofia macular relacionada con la edad, escleritis, hepatitis, pancreatitis, cirrosis biliar primaria, colangitis esclerosante, enfermedad de Addison, hipofisitis, tiroiditis, diabetes tipo I y rechazo agudo de órganos trasplantados.

20 Los inhibidores de bromodominio pueden ser útiles en el tratamiento de una amplia variedad de afecciones inflamatorias agudas tales como gota aguda, arteritis de células gigantes, nefritis incluyendo nefritis lúpica, vasculitis con afectación de órganos tal como glomerulonefritis, vasculitis incluyendo arteritis de células gigantes, granulomatosis de Wegener, poliarteritis nodosa, enfermedad de Behçet, enfermedad de Kawasaki, arteritis de Takayasu, pioderma gangrenoso, vasculitis con afectación de órganos y rechazo agudo de órganos trasplantados.

25 Los inhibidores de bromodominio pueden ser útiles en la prevención o el tratamiento de enfermedades o afecciones que implican respuestas inflamatorias a infecciones con bacterias, virus, hongos, parásitos o sus toxinas, tales como sepsis, síndrome de sepsis, choque séptico, endotoxemia, síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS), síndrome de disfunción multiorgánica, síndrome de choque tóxico, lesión pulmonar aguda, SDRA (síndrome de dificultad respiratoria en adultos), insuficiencia renal aguda, hepatitis fulminante, quemaduras, pancreatitis aguda, síndromes posquirúrgicos, sarcoidosis, reacciones de Herxheimer, encefalitis, mielitis, meningitis, malaria y SIRS asociado con infecciones virales tales como gripe, herpes zoster, herpes simple y coronavirus.

30 Los inhibidores de bromodominio pueden ser útiles en la prevención o el tratamiento de afecciones asociadas con lesiones de isquemia-reperusión tales como infarto de miocardio, isquemia cerebrovascular (apoplejía), síndromes coronarios agudos, lesión por reperusión renal, trasplante de órganos, injerto de bypass en arteria coronaria, procedimientos de bypass cardiopulmonar, embolismo pulmonar, renal, hepático, gastrointestinal o extremidad periférica.

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

Los inhibidores de bromodominio pueden ser útiles en el tratamiento de afecciones fibróticas tales como fibrosis pulmonar idiopática, fibrosis renal, estenosis postoperatoria, formación de cicatrices queloides, esclerodermia (incluida morfea) y fibrosis cardíaca.

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

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

45 Los inhibidores de bromodominio pueden ser útiles en el tratamiento de patologías dérmicas tales como melanoma no maligno (queratosis actínica y células basales) melanoma in situ, carcinoma de células escamosas y linfoma cutáneo de células T.

50 En una realización, la enfermedad o afección para la que está indicado un inhibidor de bromodominio se selecciona de entre enfermedades asociadas con el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica, tales como sepsis, quemaduras, pancreatitis, traumatismo mayor, hemorragia e isquemia. En esta realización, el inhibidor de bromodominio se administraría en el punto de diagnóstico para reducir la incidencia de: SIRS, comienzo de shock, síndrome de disfunción de múltiples órganos, que incluye el comienzo de lesión pulmonar aguda, SIRS, lesión renal, hepática, cardíaca y gastrointestinal aguda y mortalidad. En otra realización, el inhibidor de bromodominio se administraría antes de procedimientos quirúrgicos u otros procedimientos asociados con un alto riesgo de sepsis, hemorragia, daño tisular extenso, SIRS o MODS (síndrome de disfunción de múltiples órganos). En una realización

particular, la enfermedad o afección para la que está indicado un inhibidor de bromodominio es sepsis, síndrome de sepsis, choque séptico y endotoxemia. En otra realización, el inhibidor de bromodominio está indicado para el tratamiento de pancreatitis aguda o crónica. En otra realización, el bromodominio está indicado para el tratamiento de quemaduras.

- 5 En una realización, la enfermedad o afección para la que está indicado un inhibidor de bromodominio se selecciona de entre infecciones y reactivaciones de herpes simple, herpes labial, infecciones y reactivaciones de herpes zoster, varicela, herpes, virus del papiloma humano, virus de inmunodeficiencia humana (VIH), neoplasia cervical, infecciones por adenovirus, incluyendo enfermedades respiratorias agudas, infecciones por poxvirus tales como viruela vacuna y viruela y virus de la peste porcina africana. En una realización particular, un inhibidor de bromodominio está indicado para el tratamiento de infecciones por el virus del papiloma humano de piel o epitelio cervical.

La expresión "enfermedades o afecciones para las que está indicado un inhibidor de bromodominio", pretende incluir cada uno o la totalidad de entre los estados de enfermedad anteriores.

- 15 Aunque es posible que, para su uso en terapia, un compuesto de fórmula (I) así como sus sales farmacéuticamente aceptables puedan administrarse como el producto químico en bruto, es común presentar el ingrediente activo como una composición farmacéutica.

- 20 Por lo tanto, la presente invención proporciona en un aspecto adicional una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable y uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables. Los compuestos de fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables son tal como se han descrito anteriormente. El vehículo o los vehículos, el diluyente o los diluyentes o el excipiente o los excipientes deben ser aceptables en el sentido de ser compatibles con los otros ingredientes de la composición y no deben ser dañinos para el receptor de la misma. Según otro aspecto de la invención, se proporciona también un procedimiento de preparación de una composición farmacéutica que incluye mezclar un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, con uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables. La composición farmacéutica puede usarse en el tratamiento de cualquiera de las condiciones descritas en la presente memoria.

- 30 Debido a que los compuestos de fórmula (I) están destinados para su uso en composiciones farmacéuticas, se comprenderá fácilmente que cada uno de ellos se proporciona preferentemente en forma sustancialmente pura, por ejemplo, una pureza de al menos el 60%, de manera más adecuada una pureza de al menos el 75% y preferentemente una pureza de al menos el 85%, especialmente una pureza de al menos el 98% (% en peso por peso).

- 35 Las composiciones farmacéuticas pueden presentarse en formas de dosis unitarias que contienen una cantidad predeterminada de ingrediente activo por dosis unitaria. Las composiciones de dosis unitarias preferentes son aquellas que contienen una dosis o sub-dosis diaria, o una fracción apropiada de la misma, de un ingrediente activo. Por lo tanto, dichas dosis unitarias pueden administrarse más de una vez al día. Las composiciones de dosis unitarias preferentes son aquellas que contienen una dosis o sub-dosis diaria (para su administración más de una vez al día), tal como se ha indicado anteriormente en la presente memoria, o una fracción apropiada de la misma, de un ingrediente activo.

- 40 Las composiciones farmacéuticas pueden adaptarse para su administración mediante cualquier vía apropiada, por ejemplo, mediante vía oral (incluyendo bucal o sublingual), rectal, inhalada, intranasal, tópica (incluyendo bucal, sublingual o transdérmica), ocular (incluyendo tópica, intraocular, subconjuntival, epiescleral o debajo de la cápsula de Tenon), vaginal o parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular, intravenosa o intradérmica). Dichas composiciones pueden prepararse mediante cualquier procedimiento conocido en la técnica de farmacia, por ejemplo, asociando el ingrediente activo con el vehículo o los vehículos o el excipiente o los excipientes.

- 45 En una realización, la composición farmacéutica está adaptada para la administración parenteral, particularmente la administración intravenosa.

En una realización, la composición farmacéutica está adaptada para la administración oral.

En una realización, la composición farmacéutica está adaptada para la administración tópica.

- 50 Una forma de dosificación preferente que resulta en la oclusión y la modificación de la permeación de la piel para aumentar o disminuir la exposición sistémica de compuestos de bromodominio, incluye, pero no se limita a, las formas farmacéuticamente aceptables de carboximetilcelulosa, un aliginato, gelatina o polivinilpirrolidona.

Las composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración parenteral incluyen soluciones inyectables estériles acuosas y no acuosas que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos y solutos que

5 convierten la composición en isotónica con la sangre del receptor deseado; y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes. Las composiciones pueden presentarse en recipientes de dosis unitaria o multi-dosis, por ejemplo, ampollas y viales sellados, y pueden almacenarse en un estado liofilizado (secado por congelación) que requiere solamente la adición del vehículo líquido estéril, por ejemplo, agua para inyecciones, inmediatamente antes del uso. Pueden prepararse soluciones y suspensiones inyectables extemporáneas a partir de polvos, gránulos y comprimidos estériles.

10 Las composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración oral pueden presentarse como unidades discretas tales como cápsulas o comprimidos; polvos o gránulos; soluciones o suspensiones en líquidos acuosos o no acuosos; espumas o batidos comestibles; o emulsiones líquidas de aceite en agua o emulsiones líquidas de agua en aceite.

15 Por ejemplo, para la administración oral en forma de un comprimido o una cápsula, el componente de fármaco activo puede combinarse con un vehículo inerte, oral, no tóxico, farmacéuticamente aceptable, tal como etanol, glicerol, agua y similares. Los polvos adecuados para su incorporación en comprimidos o cápsulas pueden prepararse reduciendo el compuesto a un tamaño fino adecuado (por ejemplo, mediante micronización) y mezclando con un vehículo farmacéuticamente preparado de manera similar, tal como un carbohidrato comestible, por ejemplo, almidón o manitol. Pueden estar presentes también agentes aromatizantes, conservantes, dispersantes y colorantes.

20 Las cápsulas pueden fabricarse preparando una mezcla en polvo, tal como se ha descrito anteriormente, y rellenando envolturas o vainas de gelatina formadas. Pueden añadirse agentes deslizantes y lubricantes, tales como sílice coloidal, talco, estearato de magnesio, estearato de calcio o polietilenglicol sólido antes de la operación de llenado. Puede añadirse también un agente desintegrante o solubilizante tal como agar-agar, carbonato de calcio o carbonato de sodio para mejorar la disponibilidad del medicamento cuando se ingiere la cápsula.

25 Además, cuando se desee o sea necesario, pueden incorporarse también aglutinantes, deslizantes, lubricantes, agentes edulcorantes, aromatizantes, desintegrantes y agentes colorantes adecuados a la mezcla. Los aglutinantes adecuados incluyen almidón, gelatina, azúcares naturales tales como glucosa o beta-lactosa, edulcorantes de maíz, gomas naturales y sintéticas tales como goma arábica, tragacanto o alginato sódico, carboximetilcelulosa, polietilenglicol, ceras y similares. Los lubricantes usados en estas formas de dosificación incluyen oleato de sodio, estearato de sodio, estearato de magnesio, benzoato de sodio, acetato de sodio, cloruro de sodio y similares. Los desintegrantes incluyen, sin limitación, almidón, metil celulosa, agar, bentonita, goma xantana y similares. Los comprimidos se formulan, por ejemplo, preparando una mezcla de polvos, granulando o triturando, añadiendo un lubricante y desintegrante y prensando para formar comprimidos. Se prepara una mezcla en polvo mezclando el compuesto, triturado de manera adecuada, con un diluyente o base tal como se ha descrito anteriormente, y opcionalmente, con un aglutinante tal como carboximetilcelulosa, un alginato, gelatina o polivinilpirrolidona, un retardante de solución tal como parafina, un acelerador de resorción tal como una sal cuaternaria y/o un agente de absorción tal como bentonita, caolín o fosfato dicálcico. La mezcla en polvo puede granularse humedeciéndola con un aglutinante tal como jarabe, pasta de almidón, mucílago de acacia o soluciones de materiales celulósicos o poliméricos y forzándola a través de una pantalla. Como una alternativa a la granulación, la mezcla en polvo puede ser introducida en la máquina de formación de comprimidos y el resultado son cápsulas formadas imperfectamente rotas en gránulos. Los gránulos pueden lubricarse para prevenir que se peguen a los troqueles formadores de tabletas mediante la adición de ácido esteárico, una sal estearato, talco o aceite mineral. A continuación, la mezcla lubricada se comprime en comprimidos. Los compuestos de fórmula (I) y sus sales farmacéuticamente aceptables pueden combinarse también con un vehículo inerte que fluye libremente y pueden comprimirse directamente en comprimidos sin pasar por las etapas de granulación o de formación de cápsulas. Puede proporcionarse un revestimiento protector transparente u opaco que consiste en una capa selladora de goma laca, un revestimiento de azúcar o material polimérico y un revestimiento pulido de cera. Pueden añadirse colorantes a estos revestimientos para distinguir las dosis unitarias diferentes.

50 Los fluidos orales, tales como soluciones, jarabes y elixires, pueden prepararse en forma de unidad de dosificación de manera que una cantidad determinada contenga una cantidad predeterminada del compuesto. Los jarabes pueden prepararse disolviendo el compuesto en una solución acuosa adecuadamente aromatizada, mientras que los elixires se preparan mediante el uso de un vehículo alcohólico no tóxico. Las suspensiones pueden formularse dispersando el compuesto en un vehículo no tóxico. Pueden añadirse también solubilizantes y emulsionantes tales como alcoholes isoestearílicos etoxilados y éteres de polioxietileno sorbitol, conservantes, aditivos saborizantes tales como aceite de menta o edulcorantes naturales o sacarina u otros edulcorantes artificiales y similares.

55 Cuando sea apropiado, las composiciones de dosificación unitarias para la administración oral pueden ser microencapsuladas. La formulación puede prepararse también para prolongar o mantener la liberación tal como por ejemplo revistiendo o incluyendo material en partículas en polímeros, cera o similares.

Los compuestos de fórmula (I) y sus sales farmacéuticamente aceptables pueden administrarse también en forma de sistemas de liberación de liposomas, tales como pequeñas vesículas unilamelares, grandes vesículas unilamelares y vesículas multilamelares. Los liposomas pueden formarse a partir de una diversidad de fosfolípidos, tales como colesterol, estearilamina o fosfatidilcolinas.

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

- 15 Para los tratamientos del ojo u otros tejidos externos, por ejemplo, boca y piel, las composiciones se aplican preferentemente como una solución, suspensión, emulsión, ungüento, crema, gel, pulverización o espuma tópica. Cuando se formula en un ungüento, el ingrediente activo puede emplearse con una base de ungüento parafínico o miscible con agua. De manera alternativa, el ingrediente activo puede formularse en una crema con una base de crema de aceite en agua o una base de agua en aceite.

- 20 Las composiciones farmacéuticas adaptadas para administraciones tópicas para los ojos incluyen gotas oculares en las que el ingrediente activo se disuelve o suspende en un vehículo adecuado, especialmente un disolvente acuoso. Las composiciones a administrar al ojo tendrán un pH y una osmolalidad oftálmicamente compatibles. Pueden incluirse uno o más agentes de ajuste del pH y/o agentes tamponantes oftálmicamente aceptables en una composición de la invención, incluyendo ácidos tales como ácidos acético, bórico, cítrico, láctico, fosfórico y clorhídrico; bases tales como hidróxido sódico, fosfato sódico, borato sódico, citrato sódico, acetato sódico y lactato sódico; y tampones tales como citrato/dextrosa, bicarbonato sódico y cloruro amónico. Dichos ácidos, bases y
25 tampones pueden incluirse en una cantidad requerida para mantener el pH de la composición en un intervalo oftálmicamente aceptable. Una o más sales oftálmicamente aceptables pueden incluirse en la composición en una cantidad suficiente para llevar la osmolalidad de la composición a un intervalo oftálmicamente aceptable. Dichas sales incluyen aquellas que tienen cationes de sodio, potasio o amonio y aniones de cloruro, citrato, ascorbato, borato, fosfato, bicarbonato, sulfato, tiosulfato o bisulfito.

- 30 Puede diseñarse un dispositivo de administración ocular para la liberación controlada de uno o más agentes terapéuticos con múltiples velocidades de liberación y cinéticas de dosis sostenida y permeabilidad definidas. La liberación controlada puede obtenerse mediante el diseño de matrices poliméricas que incorporan diferentes opciones y propiedades de polímeros biodegradables/bioerosionables (por ejemplo, acetato de poli(etileno vinilo) (EVA), PVA superhidrolizado), hidroxialquicelulosa (HPC), metilcelulosa (MC), hidroxipropilmetil celulosa (HPMC), policaprolactona, ácido poli(glicólico), ácido poli(láctico), polianhídrido, de pesos moleculares poliméricos, cristalinidad polimérica, relaciones de copolímeros, condiciones de procesamiento, acabado superficial, geometría, adición de excipientes y revestimientos poliméricos que mejorarán la difusión, la erosión, la disolución y la osmosis de fármacos.
35

- 40 Las composiciones farmacéuticas para el suministro ocular también incluyen una composición acuosa gelificable en el sitio. Dicha composición comprende un agente gelificante en una concentración eficaz para promover la gelificación con el contacto con el ojo o con el fluido lacrimal. Los agentes gelificantes adecuados incluyen, pero no se limitan a, polímeros termoendurecibles. La expresión "gelificable en el sitio", tal como se usa en la presente memoria, no sólo incluye líquidos de baja viscosidad que forman geles tras el contacto con el ojo o con fluido lagrimal, sino que incluye también líquidos más viscosos tales como geles semi-fluidos y tixotrópicos que exhiben
45 una viscosidad sustancialmente mayor o una rigidez de gel tras la administración al ojo. Véase, por ejemplo, Ludwig (2005) Adv. Drug Deliv. Rev. 3; 57: 1595-639, incorporado a la presente memoria por referencia debido a sus enseñanzas de ejemplos de polímeros para su uso en la administración ocular de fármacos.

De manera conveniente, las formas de dosificación para la administración nasal o inhalada pueden formularse como aerosoles, soluciones, suspensiones, geles o polvos secos.

- 50 Para las composiciones adecuadas y/o adaptadas para la administración inhalada, es preferente que el compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, esté en una forma con un tamaño de partícula reducido, por ejemplo, obtenido mediante micronización. El tamaño de partícula preferente del compuesto o sal de tamaño reducido (por ejemplo, micronizado) se define por un valor D50 de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 10 micrómetros (por ejemplo, medido usando difracción láser).

- 55 Las formulaciones en aerosol, por ejemplo, para la administración inhalada, pueden comprender una solución o suspensión fina de la sustancia activa en un disolvente acuoso o no acuoso farmacéuticamente aceptable. Las

5 formulaciones de aerosol pueden presentarse en cantidades únicas o múltiples en forma estéril en un recipiente sellado, que puede adoptar la forma de un cartucho o recarga para su uso con un dispositivo de atomización o un inhalador. De manera alternativa, el recipiente sellado puede ser un dispositivo dispensador unitario tal como un inhalador nasal de dosis única o un dispensador de aerosol equipado con una válvula dosificadora (inhalador de dosis medida) que está destinado a ser desechado una vez agotado el contenido del recipiente.

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

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

25 Los compuestos de fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos pueden formularse como una formulación fluida para su suministro desde un dispensador de fluido, por ejemplo, un dispensador de fluido que tiene una boquilla dispensadora u orificio dispensador a través del cual se dispensa una dosis medida de la formulación fluida tras la aplicación de una fuerza aplicada por el usuario a un mecanismo de bomba del dispensador de fluido. Dichos dispensadores de fluido están provistos generalmente de un depósito de múltiples dosis medidas de la formulación fluida, pudiéndose dispensar las dosis mediante accionamientos de bomba
30 secuenciales. La boquilla u orificio dispensador puede estar configurada para su inserción en las fosas nasales del usuario para dispensar mediante pulverización la formulación de fluido al interior de la cavidad nasal. Un dispensador de fluido del tipo indicado anteriormente se describe y se ilustra en el documento WO-A-2005/044354.

35 Una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo dependerá de una serie de factores que incluyen, por ejemplo, la edad y el peso del animal, la condición precisa que requiere tratamiento y su gravedad, la naturaleza de la formulación y la vía de administración y, en última instancia, estará a la discreción del médico o veterinario asistente. En la composición farmacéutica, cada unidad de dosificación para la administración oral o parenteral contiene preferentemente de 0,01 a 3.000 mg, más preferentemente de 0,5 a 1.000 mg, de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, calculada como la base libre. Cada unidad de dosificación para la administración nasal o inhalada contiene
40 preferentemente de 0,001 a 50 mg, más preferentemente de 0,01 a 5 mg, de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, calculada como la base libre.

45 Los compuestos farmacéuticamente aceptables de fórmula (I) y sus sales farmacéuticamente aceptables pueden administrarse en una dosis diaria (para un paciente adulto) de, por ejemplo, una dosis oral o parenteral de 0,01 mg a 3.000 mg por día o de 0,5 a 1.000 mg por día, o una dosis nasal o inhalada de 0,001 a 50 mg por día o de 0,01 a 5 mg por día, del compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, calculada como la base libre. Esta cantidad puede administrarse en una única dosis al día o más normalmente en un número (tal como dos, tres, cuatro, cinco o seis) de sub-dosis por día, de manera que la dosis diaria total sea la misma. Una cantidad eficaz de una sal del mismo puede determinarse como una proporción de la cantidad eficaz del compuesto de fórmula (I).

50 Los compuestos de fórmula (I) y sus sales farmacéuticamente aceptables pueden emplearse solos o en combinación con otros agentes terapéuticos. De esta manera, las terapias de combinación según la presente invención comprenden la administración de al menos un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y el uso de al menos otro agente farmacéuticamente activo. Preferentemente, las terapias de combinación según la presente invención comprenden la administración de al menos un compuesto de fórmula (I) o
55 una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y al menos otro agente farmacéuticamente activo. El compuesto o los compuestos de fórmula (I) y sus sales farmacéuticamente aceptables y los otros agentes farmacéuticamente activos pueden administrarse juntos en una sola composición farmacéutica o por separado y, cuando se

5 administran por separado, esto puede ocurrir simultánea o secuencialmente en cualquier orden. Las cantidades del compuesto o los compuestos de fórmula (I) y sus sales farmacéuticamente aceptables y el otro agente o agentes farmacéuticamente activos y los tiempos de administración relativos se seleccionarán con el fin de conseguir el efecto terapéutico combinado deseado. De esta manera, en un aspecto adicional, se proporciona una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y al menos otro agente farmacéuticamente activo.

10 De esta manera, en un aspecto, el compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y las composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo según la invención pueden usarse en combinación con, o pueden incluir uno o más agentes terapéuticos diferentes, por ejemplo seleccionados de entre antibióticos, antivirales, glucocorticosteroides, antagonistas muscarínicos, agonistas beta-2 y análogos de vitamina D3. En un aspecto adicional, un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo según la invención puede usarse en combinación con otro agente terapéutico que es adecuado para el tratamiento de cáncer.

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

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

20 Será evidente para una persona con conocimientos en la materia que, cuando sea apropiado, el o los otros ingredientes terapéuticos pueden usarse en forma de sales, por ejemplo, como sales de metales alcalinos o de amina o como sales de adición de ácido, o profármacos, o como ésteres, por ejemplo ésteres alquílicos inferiores, o como solvatos, por ejemplo hidratos, para optimizar la actividad y/o estabilidad y/o las características físicas, tales como la solubilidad, del ingrediente terapéutico. Será evidente también estará claro que, cuando sea apropiado, los ingredientes terapéuticos pueden usarse en una forma ópticamente pura.

Las combinaciones a las que se ha hecho referencia anteriormente pueden presentarse, de manera conveniente, para su uso en forma de una composición farmacéutica y, de esta manera, las composiciones farmacéuticas que comprenden una combinación tal como se ha definido anteriormente junto con un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable representan un aspecto adicional de la invención.

30 Los compuestos de fórmula (I) y sus sales farmacéuticamente aceptables pueden prepararse mediante los procedimientos descritos a continuación o mediante procedimientos similares. De esta manera, los siguientes intermedios y ejemplos sirven para ilustrar la preparación de los compuestos de fórmula (I) y sus sales farmacéuticamente aceptables.

Detalles experimentales generales

35 Todas las temperaturas indicadas están en °C.

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

Abreviaturas

NMP	-N-metil-2-pirrolidona
AcOH	- ácido acético
DCM	- diclorometano
DME	- 1,2-dimetoxietano
DMF	- N,N-dimetilformamida
HOBT	- 1-(hidroxi)benzotriazol
EDC	- 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodimida
Éter dietílico	- éter dietílico

(Cont.)

EtOAc	- acetato de etilo
<i>i</i> -Pr ₂ O	- éter diisopropílico
CH ₃ CN	- acetonitrilo
MeOH	- metanol
THF	- tetrahidrofurano
RT	- temperatura ambiente
Rt	- tiempo de retención
DIPEA	- N,N-diisopropiletilamina
CS ₂	- disulfuro de carbono
Na ₂ CO ₃	- carbonato de sodio
NaHCO ₃	- bicarbonato sódico
NaNO ₂	- nitrito de sodio
NaOH	- hidróxido de sodio
Na ₂ SO ₄	- sulfato de sodio
POCl ₃	- oxiclورو de fósforo (III)
Pd/C	- paladio sobre carbono
MCPBA	- ácido m-cloroperbenzoico
CDCl ₃	- cloroformo deuterado
MTBE	t-butiléter de metilo
BOC	- tert-butiloxicarbonilo
Catalizador PEPPSI	- dicloruro de [1,3-bis(2,6-diisopropilfenil)imidazol-2-ilideno] (3-cloropiridil)paladio (II)
DMSO-d ₆	- dimetilsulfóxido deuterado
N	- 1 Normal (concentración)

Metodología LC/MS

Procedimiento Formato (Modificador de ácido fórmico)

5 Condiciones LC

El análisis de UPLC se realizó en una columna Acquity UPLC BEH C18 (50 mm x 2,1 mm, i.d. 1.7 µm de diámetro de empaque) a 40 °C.

Los disolventes empleados fueron:

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

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

El gradiente empleado fue:

Tiempo (min)	Caudal (ml/min)	%A	%B
0	1	99	1
1,5	1	3	97
1,9	1	3	97
2,0	1	0	100

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

Condiciones de MS

MS : Waters ZQ
 Modo de ionización : Electropulverización de exploración alterna positiva y negativa
 Rango de exploración : 100 a 1.000 AMU
 Tiempo de exploración : 0,27 seg
 Retardo entre exploraciones : 0,10 seg

Procedimiento HpH (modificador de bicarbonato de amonio)

5 Condiciones LC

El análisis de UPLC se realizó en una columna Acquity UPLC BEH C18 (50 mm x 2,1 mm, i.d. 1.7 µm de diámetro de empaque) a 40 °C.

Los disolventes empleados fueron:

A = hidrógeno carbonato amónico 10 mM en agua ajustado a pH 10 con solución de amoníaco

10 B = acetonitrilo

El gradiente empleado fue:

Tiempo (min)	Caudal (ml/min)	%A	%B
0	1	99	1
1,5	1	3	97
1,9	1	3	97
2,0	1	0	100

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

Condiciones de MS

MS : Waters ZQ
 Modo de ionización : Electropulverización de exploración alterna positiva y negativa
 Rango de exploración : 100 a 1.000 AMU
 Tiempo de exploración : 0,27 seg
 Retardo entre exploraciones : 0,10 seg

15 **Metodología MDAP**

Procedimiento Formato

Condiciones LC

El análisis de HPLC se realizó en una columna Sunfire C18 (100 mm x 19 mm, i.d 5 µm de diámetro de empaque) o en una columna Sunfire C18 (150 mm x 30 mm, i.d. 5 µm de diámetro de empaque) a temperatura ambiente.

5 Los disolventes empleados fueron:

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

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

Ejecutar como un gradiente durante 15 o 25 minutos (ejecución extendida) con un caudal de 20 ml/min (100 mm x 19 mm, i.d 5 µm de diámetro de empaque) o 40 ml/min (150 mm x 30 mm, i.d. 5 µm de diámetro de empaque).

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

Condiciones de MS

MS	: Waters ZQ
Modo de ionización	: Electropulverización de exploración alterna positiva y negativa
Rango de exploración	: 100 a 1.000 AMU
Tiempo de exploración	: 0,50 seg
Retardo entre exploraciones	: 0,20 seg

Procedimiento HpH

Condiciones LC

15 El análisis de HPLC se realizó en una columna Bridge C18 (100 mm x 19 mm, i.d 5 µm de diámetro de empaque) o una columna Xbridge C18 (100 mm x 30 mm, 5 µm de diámetro de empaque) a temperatura ambiente.

Los disolventes empleados fueron:

A = bicarbonato de amonio 10 mM en agua, ajustado a pH 10 con solución de amoníaco

B = acetonitrilo

20 Ejecutar como un gradiente durante 15 o 25 minutos (ejecución extendida) con un caudal de 20 ml/min (100 mm x 19 mm, i.d 5 µm de diámetro de embalaje) o 40 ml/min (100 mm x 30 mm, i.d 5 µm de diámetro de embalaje).

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

Condiciones de MS

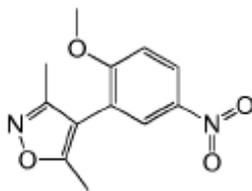
MS	: Waters ZQ
Modo de ionización	: Electropulverización de exploración alterna positiva y negativa
Rango de exploración	: 100 a 1.000 AMU
Tiempo de exploración	: 0,50 seg
Retardo entre exploraciones	: 0,20 seg

25 En los procedimientos siguientes, después de cada material de partida, se proporciona típicamente una referencia a un intermedio por número. Esto se proporciona meramente como ayuda al químico experto. No es necesario que el material de partida sea preparado a partir del lote al que se hace referencia.

Cuando se hace referencia al uso de un procedimiento "similar" o "preparado de manera similar", tal como apreciarán las personas con conocimientos en la materia, dicho procedimiento puede implicar una variación menor, por ejemplo, la temperatura de reacción, la cantidad de reactivo/disolvente, el tiempo de reacción, las condiciones de tratamiento o las condiciones de purificación cromatográfica.

Intermedio 1**3,5-dimetil-4-[2-(metiloxi)-5-nitrofenil]isoxazol**

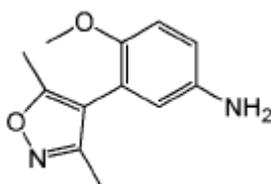
5



Se combinaron 3-iodo-4-(metoxi)nitrobenzoceno (50 g, 179 mmol), ácido (3,5-dimetil-4-isoxazolil)borónico (27,8 g, 197 mmol) y carbonato de cesio (117 g, 358 mmol) en un RBF de 500 ml con DME (80 ml) y agua (40 ml) y la mezcla se desgasificó con nitrógeno durante 10 min, a continuación, se añadió el catalizador PEPPSI (3,04 g, 4,48 mmoles) y la mezcla se calentó a 90°C durante 4 h bajo una atmósfera de nitrógeno. La reacción enfriada se diluyó con EtOAc (800 ml), la capa orgánica se separó y se lavó con solución al 10% de sulfito de sodio. El disolvente se secó y se evaporó en vacío para dar un sólido de color marrón que se trituró con éter (200 ml) y el producto sólido se lavó con éter (100 ml) para dar 3,5-dimetil-4-[2-(metiloxi)-5-nitrofenil]isoxazol (43,9 g, 177 mmol, rendimiento del 99%) como un sólido de color beige LCMS (formiato) Rt 0,99 min, MH⁺ 249

Intermedio 2**[3-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-4-(metiloxi)fenil]amina**

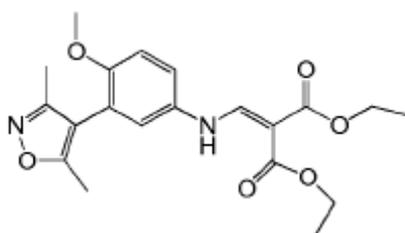
20



Se disolvió 3,5-dimetil-4-[2-(metiloxi)-5-nitrofenil]isoxazol (para una preparación, véase el intermedio 1) (43,9 g, 177 mmol) en EtOAc (1 litro) diluido con etanol (1 litro) y se añadió a Pd/C (8 g, 5% p/p, 50% de agua, Tipo E101 NO/W) en un matraz de hidrogenación de 5 litros bajo vacío, habiendo purgando primero el recipiente dos veces con ciclos de vacío/nitrógeno. La mezcla se agitó durante 24 h. No hubo absorción de hidrógeno durante las primeras 8-10 h, a continuación, absorción constante hasta que se consumen aproximadamente 20 litros. La mezcla se purgó con 3x ciclo de vacío/nitrógeno y, a continuación, se filtró a través de Celite™ bajo nitrógeno y el filtrado se evaporó en vacío para dar [3-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-4-(metiloxi)fenil]amina 3-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-4-(metiloxi)anilina (38,6 g, 177 mmol, rendimiento del 100%) como un sólido cristalino marrón. LCMS (formiato) Rt 0,50 min, MH⁺ 219

Intermedio 3**([3-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-4-(metiloxi)fenil]amino)metiliden)propanodioato de dietilo**

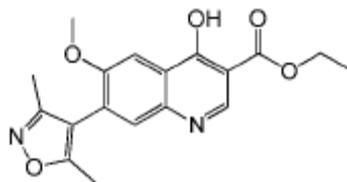
35



Se disolvió [3-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-4-(metiloxi)fenil]amina (para una preparación véase el intermedio 2) (39 g, 179 mmoles) en [(etiloxi)metiliden]propanodioato de dietilo (38,6 g, 179 mmol) y se calentó a 130°C, dando una efervescencia constante a medida que se evaporaba el etanol. La solución se calentó durante 1 h, a continuación, se enfrió a temperatura ambiente y se evaporó en vacío para dar un aceite de color marrón. El producto se disolvió en DCM (100 ml) y se cargó en una columna de sílice de 750 g, a continuación, se eluyó con EtOAc al 0-100% de EtOAc/ciclohexano para dar ([3-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-4-(metiloxi)fenil]amino)metiliden)propanodioato de dietilo (59,5 g, 153 mmol, rendimiento del 86%) como un sólido cristalino de color amarillo pálido. LCMS (formiato) Rt 1,15 min, MH⁺ 389.

Intermedio 4**7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-4-hidroxi-6-(metiloxi)-3-quinolincarboxilato de etilo**

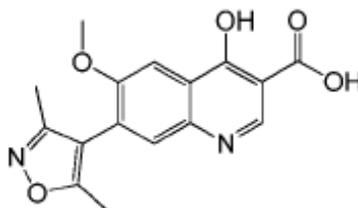
5



Se añadió ([3-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-4-(metiloxi)fenil]amino)metiliden)propanodioato de etilo (para una preparación, véase el intermedio 3) (35 g, 90 mmol), en pequeñas porciones, durante 10 minutos, a éter difenílico en ebullición (500 ml), resultando en una vigorosa eferescencia. La mezcla se calentó a reflujo durante 20 minutos, el calentador se apagó y se retiró del recipiente y la solución se dejó enfriar en aire durante 2 horas a 40°C, dando cierta precipitación de un sólido granular de color marrón. La mezcla se diluyó con éter (300 ml) y se dejó reposar durante la noche, a continuación, se filtró y el sólido se lavó con éter (2 x 200 ml) y se secó para dar 7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-4-hidroxi-6-(metiloxi)-3-quinolincarboxilato de etilo (28,4 g, 83 mmol, rendimiento del 92%). LCMS (formiato) Rt 0,73 min, MH⁺ 343

Intermedio 5**Ácido 7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-4-hidroxi-6-(metiloxi)-3-quinolincarboxílico**

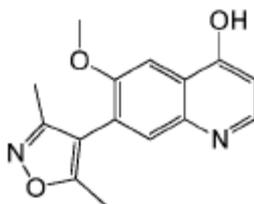
20



Se suspendió 7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-4-hidroxi-6-(metiloxi)-3-quinolincarboxilato de etilo (para una preparación véase el intermedio 4) (28,4 g, 83 mmol) en una mezcla de etanol (200 ml) y NaOH (2 M, 124 ml, 249 mmol) y la mezcla se calentó a reflujo durante la noche, a continuación, se evaporó a aproximadamente 100 ml de volumen y la solución resultante se lavó con MTBE (100 ml). La capa acuosa se acidificó a pH 4 con HCl 1 M, a continuación, el sólido resultante se recogió mediante filtración y se lavó con agua y se secó durante la noche a 40°C en el horno de vacío para dar ácido 7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-4-hidroxi-6-(metiloxi)-3-quinolincarboxílico (24,5 g, 78 mmol, rendimiento del 94%) como un sólido de color amarillo pálido. LCMS Rt 0,76 min, MH⁺ 315

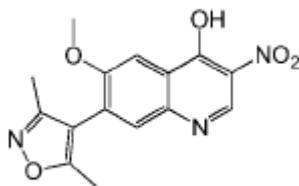
Intermedio 6**7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-6-(metiloxi)-4(1H)-quinolinona**

35



Se añadió ácido 7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-6-(metiloxi)-4-oxo-1,4-dihidro-3-quinolincarboxílico (para una preparación, véase el intermedio 5) (8 g, 25,5 mmol), en porciones pequeñas, a éter difenílico a reflujo (150 ml) y la solución resultante se agitó durante 30 minutos, a continuación, se dejó enfriar a 35°C antes de la adición de éter dietílico (200 ml). La suspensión resultante se filtró y el producto sólido se lavó con éter (100 ml) para dar 7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-6-(metiloxi)-4(1H)-quinolinona (6,9 g, 25,5 mmol, rendimiento del 100%) como un sólido de color beige. LCMS (formiato) Rt 0,61, MH⁺ 271.

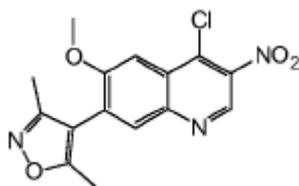
Intermedio 7

7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-6-(metiloxi)-3-nitro-4-quinolinol

5

Se añadió ácido nítrico (1,86 g, 1,32 ml, 29,5 mmol), gota a gota, a una solución agitada de 7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-6-(metiloxi)-4(1H)-quinolinona (para una preparación, véase el intermedio 6) (6,9 g, 25,6 mmol) en ácido propiónico (70 ml). Después de la adición completa, la mezcla de reacción se agitó a 100°C durante 1 h. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, el sólido se separó mediante filtración, se lavó con éter dietílico y se secó para dar 7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-6-(metiloxi)-3-nitro-4-quinolinol (5,0 g, 15,86 mmol, rendimiento del 62,1%) como un sólido de color amarillo brillante. LCMS (formiato) Rt 1,15 min, MH⁺ 316

10

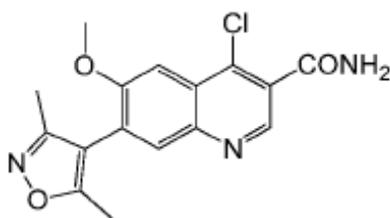
Intermedio 8**4-(4-cloro-6-metoxi-3-nitroquinolin-7-il)-3,5-dimetilisoxazol**

15

Se disolvió 7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-6-metoxi-3-nitroquinolin-4(1H)-ona (para una preparación, véase el intermedio 6) (4,78 g, 15,16 mmol) en POCl₃ (10 ml, 107 mmol) y la mezcla se calentó a 110°C durante 3 horas, a continuación, se enfrió y se evaporó en vacío. El residuo se suspendió en tolueno (20 ml) y se evaporó en vacío, a continuación, el residuo se suspendió en DCM (100 ml) y solución saturada de hidrogenocarbonato sódico (100 ml) y se agitó durante 10 minutos. La capa orgánica se secó y se evaporó y el residuo se disolvió en DCM (10 ml) y se cargó en una columna de sílice de 100 g, a continuación, se eluyó con 0-60% de EtOAc/ciclohexano para dar 4-(4-cloro-6-metoxi-3-nitroquinolin-7-il)-3,5-dimetilisoxazol (3,21 g, 9,62 mmol, rendimiento del 63,4%) como un polvo de color amarillo brillante. LCMS (formiato) Rt 1,13 min, MH⁺ 334

20

25

Intermedio 9**4-cloro-7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-6-(metiloxi)-3-quinolincarboxamida**

30

Se calentó ácido 7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-6-(metiloxi)-4-oxo-1,4-dihidro-3-quinolincarboxílico (para una preparación, véase el intermedio 5) (36 g, 115 mmol) en POCl₃ (33 ml, 354 mmol) durante 4 horas, a continuación, se dejó enfriar a temperatura ambiente y se dejó reposar durante la noche. La mezcla se evaporó en un evaporador rotatorio, a continuación, el residuo de color marrón se sometió a destilación azeotrópica hasta la sequedad con tolueno (2 x 300 ml) y la goma de color marrón oscuro resultante se disolvió en THF (300 ml) y se añadió gota a gota a una solución concentrada de hidróxido amónico (100 ml, 0,880) enfriando en un baño de hielo. La mezcla se agitó durante 30 minutos, a continuación, se evaporó hasta la mitad del volumen, se diluyó con agua (100 ml) y el sólido de color marrón oscuro resultante se recogió mediante filtración, se lavó con agua (100 ml) y se secó en estufa de vacío a 50°C durante tres días para dar 4-cloro-7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-6-(metiloxi)-3-quinolincarboxamida (33,2 g, 100 mmol, rendimiento del 87%) como un sólido de color marrón. LCMS (formiato) Rt 0,80 min, MH⁺ 332

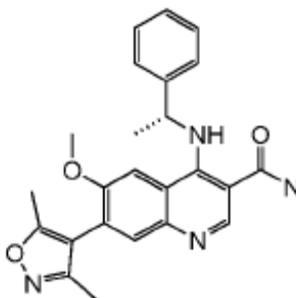
35

40

Intermedio 10**7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-6-(metiloxi)-4-[[1(R)-1-feniletil]amino]-3-quinolincarboxamida**

45

5



10

15

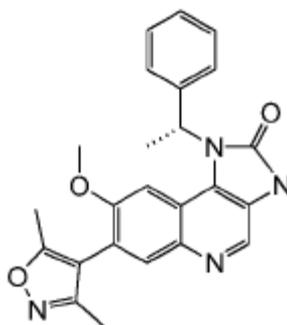
Se disolvió 4-cloro-7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-6-(metiloxi)-3-quinolincarboxamida (para una preparación, véase el intermedio 9) (3,33 g, 10,04 mmol) en NMP (10 ml) y DIPEA (1,8 ml, 10 mmol) y [(1R)-1-feniletil]amina (1,58 g, 13,05 mmol), a continuación, la solución se calentó a 120°C durante 18 horas, a continuación, se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con agua (100 ml) y se extrajo con EtOAc (2 x 100 ml). La capa orgánica se lavó con agua (2 x 100 ml), se secó con sulfato sódico y se evaporó en vacío para dar una goma de color marrón. Esta se disolvió en DCM (20 ml) y se cargó en un cartucho de sílice de 100 g, a continuación, se eluyó con MeOH/DCM (0-10%) y las fracciones que contenían el producto se evaporaron en vacío para dar 7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-6-(metiloxi)-4-[[[(1R)-1-feniletil]amino]-3-quinolincarboxamida (3,5 g, 8,40 mmol, rendimiento del 84%) como un sólido de color beige. LCMS (formiato) Rt 0,84 min, MH⁺ 417

Intermedio 11

7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-8-(metiloxi)-1-[(1R)-1-feniletil]-1,3-dihidro-2H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona

20

25



30

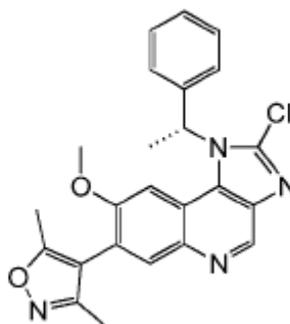
Se disolvió 7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-6-(metiloxi)-4-[[[(1R)-1-feniletil]amino]-3-quinolincarboxamida (para una preparación, véase el intermedio 10) (3,3 g, 7,92 mmol) en metanol (50 ml) y se enfrió en un baño de hielo, a continuación, se añadió hidróxido de potasio (0,667 g, 11,89 mmol) y la solución se agitó durante 20 minutos, a continuación, se añadió diacetato de yodobenceno (3,32 g, 10,30 mmol) y la mezcla se agitó durante otras 3 horas. La solución se evaporó en vacío y el residuo se disolvió en DCM y se cargó en una columna de sílice de 100 g, a continuación, se eluyó con MeOH/DCM (0-10%) para dar 7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-8-(metiloxi)-1-[(1R)-1-feniletil]-1,3-dihidro-2H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona (2,03 g, 4,90 mmol, rendimiento del 61,8%) como una espuma de color beige. LCMS (formiato) Rt 0,99 min, MH⁺ 415

Intermedio 12

35

2-cloro-7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-8-(metiloxi)-1-[(1R)-1-feniletil]-1H-imidazo[4,5-c]quinolina

40

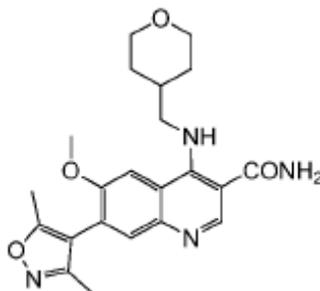


Se calentó 7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-8-(metiloxi)-1-[(1R)-1-feniletíl]-1,3-dihidro-2H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona (para una preparación, véase el intermedio 11) (0,33 g, 0,796 mmol) en una mezcla de POCl_3 (1 ml, 10,73 mmol) y PCl_5 (0,166 g, 0,796 mmol) a 120°C durante 5 horas, a continuación, se enfrió y se dejó reposar a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se evaporó en vacío y, a continuación, el residuo se suspendió en tolueno y se evaporó hasta formar una goma de color marrón. Esta se disolvió en DCM (20 ml) y se lavó con solución saturada de hidrogenocarbonato de sodio, a continuación, la capa orgánica se cargó en un cartucho de sílice de 25 g. La columna se eluyó con EtOAc/ciclohexano (0-100%) y las fracciones que contenían el producto se evaporaron en vacío para dar 2-cloro-7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-8-(metiloxi)-1-[(1R)-1-feniletíl]-1H-imidazo[4,5-c]quinolina 31 mg, 0,072 mmol, rendimiento del 8,99%) como un vidrio de color beige. LCMS (formiato) Rt 1,05 min, MH^+ 433.

10 Intermedio 13

7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-6-(metiloxi)-4-[(tetrahidro-2H-piran-4-ilmetil)amino]-3-quinolincarboxamida

15

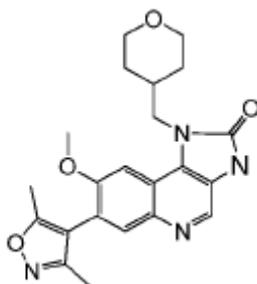


Se disolvió 4-cloro-7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-6-(metiloxi)-3-quinolincarboxamida (para una preparación, véase el intermedio 9) (1,890 g, 5,70 mmol) en NMP (5 ml), se añadió DIPEA (2,487 ml, 14,24 mmol) seguido de (tetrahidro-2H-piran-4-il)metanamina (0,82 g, 7,12 mmol) y la mezcla se calentó a 120°C durante 3 horas, a continuación, se enfrió y la solución de color marrón se cargó en un cartucho SCX-2 de 70 g, la columna se lavó con metanol (200 ml) y, a continuación, se eluyó con amoniaco metanólico 2 M (100 ml) y metanol (100 ml). El eluyente se evaporó en vacío para dar un sólido de color marrón. Este se trituroó con EtOAc (30 ml) y el sólido se recogió mediante filtración para dar 7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-6-(metiloxi)-4-[(tetrahidro-2H-piran-4-ilmetil)amino]-3-quinolincarboxamida (1,58 g, 3,85 mmol, rendimiento del 54,1%) como un sólido de color marrón. LCMS (formiato) Rt 0,64, MH^+ 411

25 Intermedio 14

7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-8-(metiloxi)-1-(tetrahidro-2H-piran-4-ilmetil)-1,3-dihidro-2H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona

30

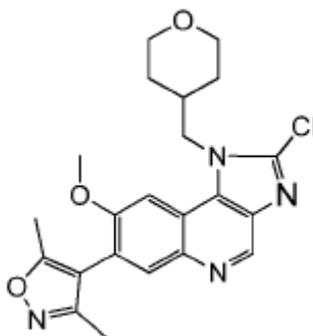


Se suspendió 7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-6-(metiloxi)-4-[(tetrahidro-2H-piran-4-ilmetil)amino]-3-quinolincarboxamida (para una preparación, véase el intermedio 13) (1,50 g, 3,65 mmol) en metanol (50 ml) y se añadió hidróxido de potasio (0,308 g, 5,48 mmoles). La mezcla se agitó durante 20 minutos, a continuación, se enfrió en un baño de hielo y se añadió diacetato de yodobenceno (1,530 g, 4,75 mmol), a continuación, la mezcla se agitó durante 2 horas adicionales a 0°C . Apareció un precipitado delgado de color beige y después de 30 minutos de agitación adicionales, la mezcla se filtró y el sólido se lavó con metanol (5 ml), a continuación, se secó en el horno de vacío para dar 7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-8-(metiloxi)-1-(tetrahidro-2H-piran-4-ilmetil)-1,3-dihidro-2H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona (1,400 g, 3,43 mmol, rendimiento del 94%) como un polvo de color beige. LCMS (formiato) Rt 0,65 min, MH^+ 409

40 Intermedio 15

45 2-cloro-7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-8-(metiloxi)-1-(tetrahidro-2H-piran-4-ilmetil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolina

5



10

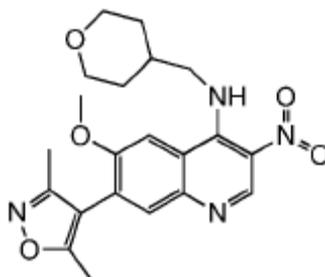
15

Se disolvió 7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-8-(metiloxi)-1-(tetrahydro-2H-piran-4-ilmetil)-1,3-dihidro-2H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona (para una preparación, véase el intermedio 14) (220 mg, 0,539 mmol) en POCl_3 (2 ml, 21,46 mmol), PCl_5 (0,2 g, 0,960 mmol) y la mezcla se calentó a 120°C durante 24 h. La mezcla de reacción se evaporó en vacío para dar un sólido de color beige. Se disolvió en DCM (3 ml) y se cargó en una columna de sílice de 25 g, a continuación, se eluyó con 0-10% de amoniaco metanólico 2 M/DCM (25 volúmenes de columna) y las fracciones que contenían el producto se evaporaron en vacío para dar 2-cloro-7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-8-(metiloxi)-1-(tetrahydro-2H-piran-4-ilmetil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolina (14,2 mg, 0,033 mmol, rendimiento del 6,18%) como un sólido de color beige. LCMS (formiato) Rt 0,81 min, MH^+ 427.

Intermedio 16

7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-6-metoxi-3-nitro-N-((tetrahydro-2H-piran-4-il)metil)quinolin-4-amina

20



25

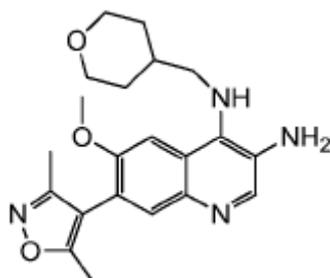
30

Se disolvió 4-cloro-7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-6-(metiloxi)-3-nitroquinolina (para una preparación, véase el intermedio 8) (1,06 g, 3,18 mmol) en NMP (5 ml), a continuación, se añadieron DIPEA (0,56 ml, 3,18 mmol) y (tetrahydro-2H-piran-4-il)metanamina (0,75 g, 6,51 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción cambió inmediatamente de color y en 5 minutos se formó un precipitado espeso de color amarillo. La mezcla se agitó durante 20 minutos, a continuación, se diluyó con agua (30 ml) y se agitó durante 10 minutos. El precipitado se recogió mediante filtración y se lavó con agua (2 x 20 ml), a continuación, se secó en vacío para dar 7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-6-metoxi-3-nitro-N-((tetrahydro-2H-piran-4-il)metil)quinolin-4-amina (1,22 g, 2,96 mmol, rendimiento del 93%) como un sólido de color amarillo brillante. LCMS (formiato) Rt 0,88 min, MH^+ 413

Intermedio 17

7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-6-(metiloxi)- N^4 -((tetrahydro-2H-piran-4-il)metil)-3,4-quinolindiamina

35



40

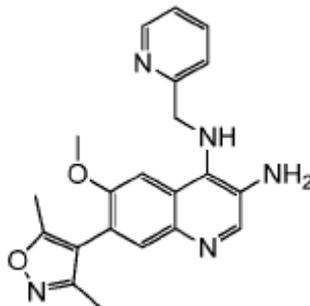
Se disolvió 7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-6-metoxi-3-nitro-N-((tetrahydro-2H-piran-4-il)metil)quinolin-4-amina (para una preparación, véase el intermedio 16) (1,2 g, 2,91 mmol) en una mezcla de acetato de etilo (60 ml) y metanol (10 ml) y se hidrogenó sobre Pd/C (0,310 g, 2,91 mmol, 5% p/p, 50% de agua, NO/W) tipo E101 durante 24 h a presión atmosférica bajo una bureta de hidrógeno. La mezcla se filtró y se evaporó y el residuo se disolvió en DCM (3 ml) y

se cargó en una columna de sílice de 50 g, a continuación, se eluyó con 0-15% de amoníaco metanólico 2 M/DCM y las fracciones que contenían el producto se evaporaron en vacío para dar 7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-6-metoxi-N4-(tetrahydro-2H-piran-4-il)metil)quinolin-3,4-diamina (0,45 g, 1,177 mmol, rendimiento del 40,4 %) como un sólido de color amarillo pálido. LCMS (formiato) Rt 0,68 min, MH⁺ 384

5 **Intermedio 18**

7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-N-[1-metil-2-(metiloxi)etil]-6-(metiloxi)-3-nitro-4-quinolinamina

10



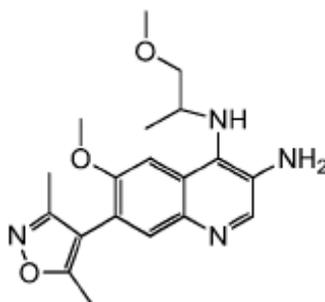
15

Se disolvieron 1-(metiloxi)-2-propanamina (0,35 g) y 4-cloro-7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-6-(metiloxi)-3-nitroquinolina (para una preparación, véase el intermedio 8) (0,74 g, 2,217 mmol) en una mezcla de trietilamina (0,30 ml, 2,2 mmol) y NMP (3 ml) y la solución se dejó reposar durante 30 minutos a temperatura ambiente, a continuación, se diluyó con agua (20 ml) y la suspensión resultante se agitó durante 20 minutos, a continuación, se filtró y el sólido resultante se lavó con agua (10 ml) y se secó en el horno de vacío a 50°C para dar el compuesto del título como un sólido de color amarillo brillante. (0,80 g, 2,070 mmol, rendimiento del 93%). LCMS (formiato) Rt 0,97 MH⁺ 387

20

7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-N⁴-[1-metil-2-(metiloxi)etil]-6-(metiloxi)-3,4-quinolindiamina

25



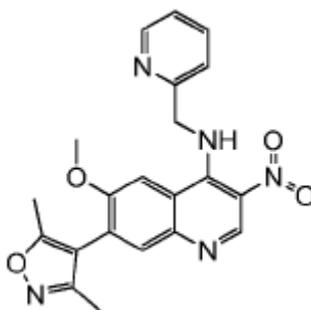
30

Se disolvió 7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-6-metoxi-N-(1-metoxipropan-2-il)-3-nitroquinolin-4-amina (0,80 g, 2,070 mmol) en EtOAc (120 ml) y se hidrogenó usando un aparato de hidrogenación de flujo (H cube™, ajustes: hidrógeno completo, presión atmosférica, caudal de 1 ml/min). El eluyente se evaporó en vacío para dar el compuesto del título como una goma de color naranja (0,73 g, 99%). LCMS (formiato) Rt 0,73 min, MH⁺ 357.

Intermedio 20

7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-6-(metiloxi)-3-nitro-N-(2-piridinilmetil)-4-quinolinamina

35



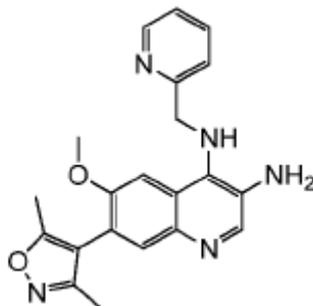
40

Una mezcla de 4-cloro-7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-6-(metiloxi)-3-nitroquinolina (1,5 g, 3,5 mmoles) y 2-(aminometil)piridina (1,46 g, 13,5 mmol) en dioxano (10 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. La mezcla de reacción se enfrió y el disolvente se evaporó. El residuo se cromatografió [50-100% acetato de

etilo/ciclohexano] para dar el compuesto del título como un sólido de color amarillo (1,5 g, 3,70 mmol, rendimiento del 82%). LCMS (formiato) Rt 0,86 min, MH⁺ 406.

Intermedio 21

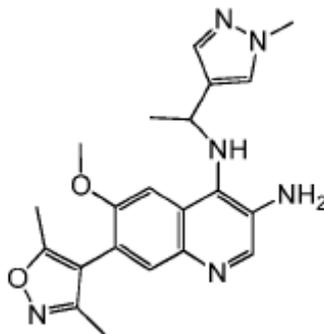
7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-6-(metiloxi)-N⁴-(2-piridinilmetil)-3,4-quinolindiamina



Se añadió paladio al 10% sobre carbono, 50% de pasta acuosa, (300 mg, 20% en peso) a una solución de 7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-6-(metiloxi)-3-nitro-N-(2-piridinilmetil)-4-quinolinamina (1,5 g, 3,70 mmol) en acetato de etilo (90 ml) y etanol (10 ml). La mezcla de reacción se agitó en una atmósfera de hidrógeno durante 3 h. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite™. El disolvente se evaporó del filtrado. El residuo se cromatografió [metanol al 5%/DCM] para dar el compuesto del título como un aceite de color marrón (1,23 g, 3,28 mmol, rendimiento del 89%). LCMS (formiato) Rt 0,63 min, MH⁺ 376

Intermedio 22

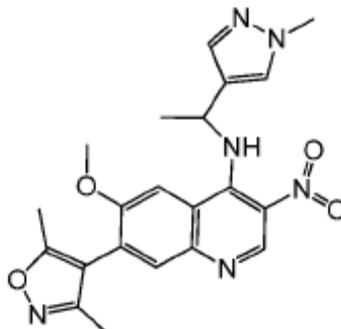
7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-6-metoxi-N4-(1-(1-metil-1H-pirazol-4-il)etil)quinolin-3,4-diamina



Se disolvió 7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-6-metoxi-N-(1-(1-metil-1H-pirazol-4-il)etil)-3-nitroquinolin-4-amina (0,20 g, 0,473 mmol, para la preparación, véase el intermedio 23) en EtOAc (80 ml) y se hidrogenó usando un hidrogenador de flujo (H-cube™, ajustes: modo de hidrógeno completo, presión atmosférica, 20°C, caudal de 1 ml/min) para dar una solución de color naranja. El eluyente se evaporó en vacío para dar 7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-6-metoxi-N4-(1-(1-metil-1H-pirazol-4-il)etil)quinolin-3,4-diamina (0,17 g, 0,433 mmol, rendimiento del 91%) como una goma de color naranja que se usó sin purificación adicional. LCMS (formiato) Rt 0,66 min, MH⁺ 393.

Intermedio 23

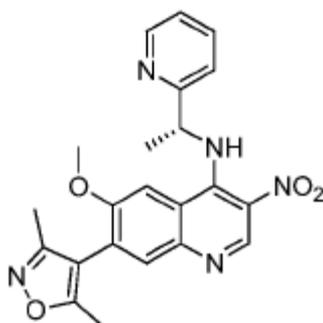
7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-6-metoxi-N-(1-(1-metil-1H-pirazol-4-il)etil)-3-nitroquinolin-4-amina



Se calentaron 4-(4-cloro-6-metoxi-3-nitroquinolin-7-il)-3,5-dimetilisoxazol (200 mg, 0,599 mmol, para la preparación, véase el intermedio 8) y [1-(1-metil-1H-pirazol-4-il)etil]amina (113 mg, 0,9 mmol) en una mezcla de DIPEA (0,324 ml, 1,858 mmol) y NMP (15 ml) a 120°C durante 4 h. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con agua (300 ml) y se extrajo con EtOAc (2 x 200 ml). La fase orgánica combinada se lavó con agua (300 ml) y salmuera (200 ml), se secó con sulfato sódico y se evaporó. La goma resultante se disolvió en DCM (3 ml), se cargó en un cartucho de sílice de 100 g y se eluyó con amoniaco metanólico 2 M/DCM (0-12%). Las fracciones que contenían el producto se evaporaron en vacío para dar 7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-6-metoxi-N-((R)-1-(1-metil-1H-pirazol-4-il)etil)-3-nitroquinolin-4-amina (0,21 g, 0,497 mmol, rendimiento del 83%) que se usó en la etapa subsiguiente sin purificación adicional. LCMS (formiato) Rt 0,87 min, MH⁺ 423.

Intermedio 24

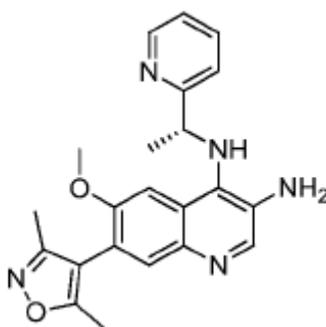
7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-6-metoxi-3-nitro-N-((R)-1-(piridin-2-il)etil)quinolin-4-amina



A una solución de 4-(4-cloro-6-metoxi-3-nitroquinolin-7-il)-3,5-dimetilisoxazol (para una preparación, véase el intermedio 8) (1 g, 3,00 mmol) en 1,4-dioxano (6,5 ml) se le añadió (R)-1-(piridin-2-il)etanamina (0,549 g, 4,49 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5 horas. Se añadió una porción adicional de (R)-1-(piridin-2-il)etanamina (0,255 g, 2,25 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una noche. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía (columna de 50 g, gradiente de ciclohexano/EtOAc) para dar 7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-6-metoxi-3-nitro-N-((R)-1-(piridin-2-il)etil)quinolin-4-amina (1,15 g, 2,74 mmol, rendimiento del 92%) como un sólido de color naranja. LCMS: (Formiato, 2 min), Rt 0,98 min, MH⁺ 420.

Intermedio 25

7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-6-metoxi-N⁴-((R)-1-(piridin-2-il)etil)quinolin-3,4-diamina

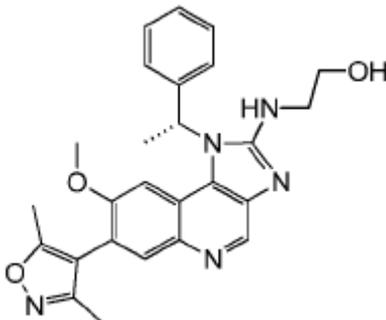


A una suspensión de 7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-6-metoxi-3-nitro-N-((R)-1-(piridin-2-il)etil)quinolin-4-amina (intermedio 24) (1,05 g, 2,503 mmol) en EtOH (20 ml) se añadió cloruro de estaño (II) (1,66 g, 8,76 mmol) y la mezcla se agitó a 40°C durante 2,5 horas. La mezcla de reacción se basificó a pH 12 usando una solución de hidróxido de sodio 2M. Se añadió agua (30 ml) y la suspensión acuosa se extrajo con DCM (3 x 30 ml). Las capas orgánicas se combinaron, se secaron pasándolas a través de una frita hidrófoba y se concentraron hasta la sequedad bajo una corriente de nitrógeno. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía (columna de 100 g, gradiente de amoniaco metanólico 2 M) para dar 7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-6-metoxi-N⁴-((R)-1-(piridin-2-il)etil)quinolin-3,4-diamina (543 mg, 1,39 mmol, rendimiento del 56%) como una goma de color marrón oscuro. LCMS: (Formiato, 2 min) Rt 0,69 min, MH⁺ 390.

Ejemplo 1

2-({7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-8-(metiloxi)-1-[(1R)-1-feniletil]-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-il}amino)etanol

5



10

15

Se disolvió 2-cloro-7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-8-(metiloxi)-1-[(1R)-1-feniletil]-1H-imidazo[4,5-c]quinolina (para una preparación, véase el intermedio 12) (30 mg, 0,035 mmol) en NMP (0,5 ml), se añadió etanolamina (30 mg) y la mezcla se calentó a 150°C durante 30 minutos, a continuación, se enfrió, se añadió a agua (10 ml) y se extrajo con EtOAc (10 ml). La fase orgánica se lavó con agua (2 x 10 ml), se secó y se evaporó. El residuo se disolvió en DCM (2 ml), se cargó en una columna de sílice de 10 g y se eluyó con amoníaco metanólico 2 M/DCM (0-10%). Las fracciones que contenían el producto se evaporaron en vacío para dar 2-({7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-8-(metiloxi)-1-[(1R)-1-feniletil]-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-il}amino)etanol (8,4 mg, 0,018 mmol, rendimiento del 53,0%) como un vidrio de color marrón claro. LCMS (formiato) Rt 0,77 min, MH⁺ 458

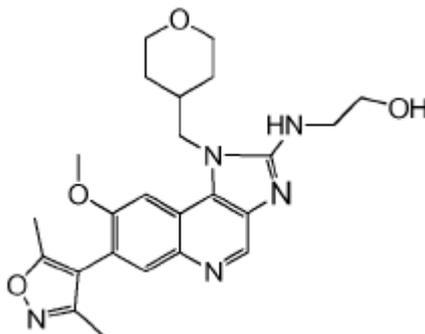
¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δH 9,0 (1 H, s), 7,88 (H, s), 7,35-7,45 (6H, m), 6,95 (1 H, br s), 6,12 (1 H, br s), 4,60 (1 H, m), 3,80-3,84 (2H, m), 3,62-3,58 (2H, m), 3,45 (3H, s), 2,33 (3H, s), 2,15 (3H, s), 2,07 (3H, d)

Ejemplo 2

20

2-{{7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-8-(metiloxi)-1-(tetrahidro-2H-piran-4-ilmetil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-il}amino}etanol

25



30

Se disolvieron 2-cloro-7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-8-(metiloxi)-1-(tetrahidro-2H-piran-4-ilmetil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolina (para una preparación, véase el intermedio 15) (14 mg, 0,033 mmol) y etanolamina (0,020 ml, 0,327 mmol) en NMP (2 ml) y se calentó a 180°C en el microondas durante 1 hora, a continuación, se enfrió y se cargó en un cartucho SCX-2 de 10 g, lavando con metanol (30 ml). El cartucho se eluyó a continuación con amoníaco metanólico 2 M (30 ml) y el eluyente se evaporó en vacío para dar una goma de color marrón poco soluble. Se disolvió en DMSO (1 ml) y se purificó con MDAP (formiato) para dar 2-{{7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-8-(metiloxi)-1-(tetrahidro-2H-piran-4-ilmetil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-il}amino}etanol (0,80 mg, 1,772 μ moles, rendimiento del 5,40%) como un vidrio de color amarillo pálido. LCMS (formiato) Rt 0,62 min, MH⁺ 452

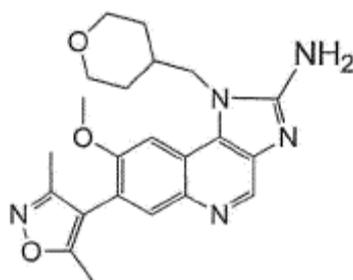
35

¹H RMN (400 MHz, MeOD) δH 8,59 (1H, s), 7,82 (1H, s), 7,43 (1H, s), 4,32 (2H, d), 3,93 (3H, s), 3,74 (2H, t), 3,58 (2H, dd), 3,08 (2H, t), 2,86 (2H, dt), 2,27 (1H, m), 2,21 (3H, s), 2,04 (3H, s), 1,96 (2H, dd), 1,73 (2H, dt)

40

Ejemplo de Referencia 3**7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-8-(metiloxi)-1-(tetrahidro-2H-piran-4-ilmetil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-amina**

5



10

Se disolvió 7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-6-metoxi-N4-((tetrahydro-2H-piran-4-il)metil)quinolin-3,4-diamina (para una preparación, véase el intermedio 17) (32 mg, 0,084 mmol) en etanol (3 ml) y se añadió bromuro de cianógeno (8,86 mg, 0,084 mmol), a continuación, la mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se evaporó hasta la sequedad, el residuo se disolvió en DMSO (1 ml) y se purificó mediante MDAP (formiato) para dar 7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-8-metoxi-1-(tetrahydro-2H-piran-4-il)metil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-amina (4,5 mg, 0,011 mmol, rendimiento del 13,2%) como un vidrio de color amarillo. LCMS (formiato) Rt 0,65 min, MH⁺ 408

15

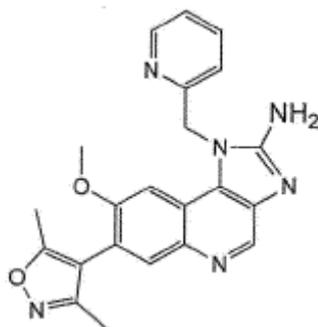
¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) 9,05 (1 H, s), 8,10 (1 H, s), 7,38 (1 H, s), 6,33 (2H, br s), 4,35 (2H, d), 4,05 (2H, d), 3,93 (3H, s), 3,30 (2H, m), 2,40 (1 H, m), 2,35 (3H, s), 2,21 (3H, s), 1,65 (4H, m)

Los ejemplos 4 y 5 se prepararon de manera similar.

Ejemplo de referencia 4

7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-8-(metiloxi)-1-(2-piridinilmetil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-amina

20



25

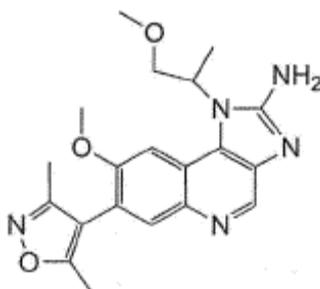
A partir de 7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-6-(metiloxi)-N⁴-(2-piridinilmetil)-3,4-quinolinodiamina (para una preparación, véase el intermedio 17) (35 mg) y bromuro de cianógeno (10 mg) para dar el compuesto del título como un sólido de color beige (12 mg, 32%). LCMS (formiato) Rt 0,61 min, MH⁺ 401

Ejemplo de Referencia 5

30

7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-1-[1-metil-2-(metiloxi)etil]-8-(metiloxi)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-amina

35



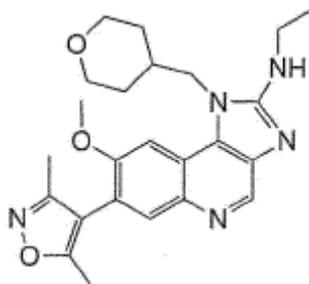
A partir de 7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-N⁴-(1-metil-2-(metiloxi)etil)-6-(metiloxi)-3,4-quinolinodiamina (para una preparación, véase el intermedio 17) (23 mg, (70 mg) y bromuro de cianógeno (20 mg) para dar el compuesto del título como un sólido de color beige (23 mg, 30%). LCMS (formiato) Rt 0,67 min, MH⁺ 382

40

Ejemplo 6

7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-N-etil-8-(metiloxi)-1-((tetrahidro-2H-piran-4-ilmetil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-amina

5



10

15

20

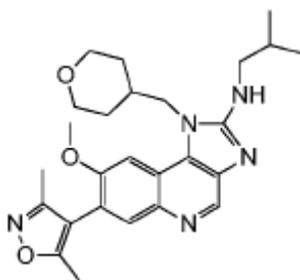
Se disolvió 7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-6-metoxi-N4-((tetrahidro-2H-piran-4-il)metil)quinolin-3,4-diamina (para una preparación, véase el intermedio 17) (100 mg, 0,261 mmol) en metanol y se añadió isotiocianato de etilo (45,6 mg, 0,523 mmol). La mezcla se calentó a 50°C durante 6 horas, se enfrió y se evaporó en vacío para dar un residuo sólido de color beige. Este se volvió a disolver en THF (5 ml) y se añadió EDC (100 mg, 0,523 mmol), a continuación, la mezcla se calentó a 60°C durante la noche. El disolvente se evaporó en vacío y el residuo se disolvió en DCM (10 ml) y se lavó con agua (10 ml), la capa orgánica se secó y se evaporó y el residuo se disolvió en DCM (2 ml) y se cargó en una columna de sílice de 10 g, a continuación, se eluyó con amoniaco metanólico 2 M/DCM (0-10%) y las fracciones que contienen producto se evaporaron en vacío para dar 7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-N-etil-8-metoxi-1-((tetrahidro-2H-piran-4-il)metil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-amina (37 mg, 0,085 mmol, rendimiento del 32,5%) como un vidrio incoloro. LCMS (formiato) Rt 0,71 min, MH⁺ 436

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δH 9,05 (1 H, s), 7,95 (1 H, s), 7,32 (1 H, s), 4,39 (1 H, t), 4,21 (2H, d), 4,00 (2H, dd), 3,91 (3H, s), 3,69 (2H, tt), 3,32 (2H, dt), 2,38 (1 H, m), 2,35 (3H, s), 2,22 (3H, s), 1,52-1,70 (4H, m), 1,35 (3H, t)

Los siguientes ejemplos se prepararon de manera similar.

Ejemplo 7**7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-N-etil-8-metoxi-1-((1-metoxipropan-2-il)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-amina**

25



30

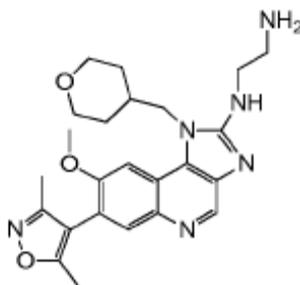
A partir de 7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-6-metoxi-N4-(tetrahidro-2H-piran-4-il)metil)quinolin-3,4-diamina (para una preparación, véase el intermedio 17) (70 mg) y 1-isotiocianato-2-metilpropano (50 mg) para dar el compuesto del título como un sólido de color beige (52 mg, 61%). LCMS (formiato) Rt 0,79 min, MH⁺ 464

Ejemplo 8

35

N1-(7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-8-metoxi-1-((tetrahidro-2H-piran-4-il)metil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-il)etan-1,2-diamina

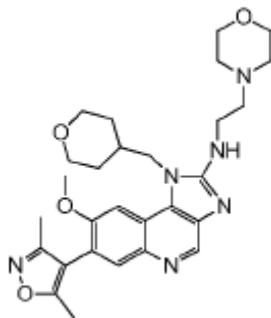
40



A partir de 7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-6-metoxi-N4-(tetrahydro-2H-piran-4-il)metilquinolin-3,4-diamina (para una preparación, véase el intermedio 17) (70 mg) y (2-isotiocianatoetil)carbamato de 1,1-dimetiletilo (50 mg). El producto crudo aislado se trató con TFA (2 ml) en DCM (10 ml), la mezcla se agitó durante 1 hora, a continuación, se evaporó en vacío. El residuo se disolvió en DMSO (1 ml) y se purificó mediante MDAP (procedimiento HpH) para dar el compuesto del título como un sólido de color beige (26 mg, 31%). LCMS (HpH) Rt 0,73 min, MH⁺ 451

Ejemplo 9

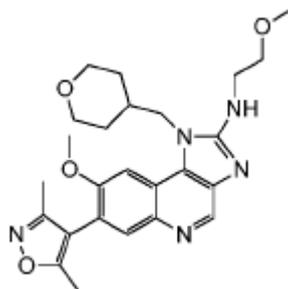
7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-8-(metiloxi)-N-[2-(4-morfolinil)etil]-1-(tetrahydro-2H-piran-4-ilmetil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-amina



A partir de 7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-6-metoxi-N4-(tetrahydro-2H-piran-4-il)metilquinolin-3,4-diamina (para una preparación, véase el intermedio 17) (70 mg) y 4-(2-isotiocianatoetil)morfolina (50 mg) para dar el compuesto del título como un sólido de color beige (57 mg, 60%). LCMS (formiato) Rt 0,51 min, MH⁺ 521

Ejemplo 10

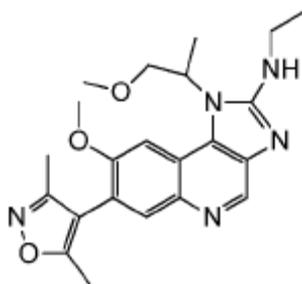
7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-8-(metiloxi)-N-[2-(metiloxi)etil]-1-(tetrahydro-2H-piran-4-ilmetil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-amina



A partir de 7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-6-metoxi-N4-(tetrahydro-2H-piran-4-il)metilquinolin-3,4-diamina (para una preparación, véase el intermedio 17) (70 mg) y 1-isotiocianato-2-(metiloxi)etano (50 mg) para dar el compuesto del título como un sólido de color beige (55 mg, 65%). LCMS (formiato) Rt 0,68 min, MH⁺ 466

Ejemplo 11

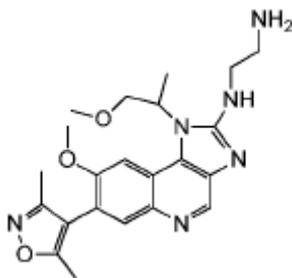
7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-N-etil-1-[1-metil-2-(metiloxi)etil]-8-(metiloxi)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-amina



A partir de 7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-6-metoxi-N4-(1-metoxipropan-2-il)quinolin-3,4-diamina (para una preparación, véase el intermedio 17) (70 mg) e isotiocianatoetano (50 mg) para dar el compuesto del título como un sólido de color beige (42 mg, 52%). LCMS (formiato) Rt 0,78 min, MH⁺ 410

Ejemplo 12

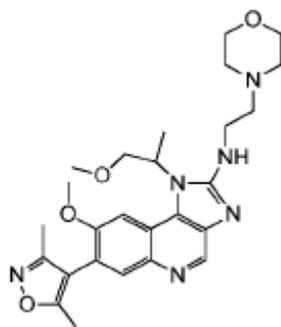
5 **N-[7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-1-[1-metil-2-(metiloxi)etil]-8-(metiloxi)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-il]-1,2-etanodiamina**



15 A partir de 7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-6-metoxi-N4-(1-metoxipropan-2-il)quinolin-3,4-diamina (70 mg) y (2-isotiocianatoetil)carbamato de 1,1-dimetiletilo (50 mg). El producto crudo aislado se trató con TFA (2 ml) en DCM (10 ml), la mezcla se agitó durante 1 hora, a continuación, se evaporó en vacío. El residuo se disolvió en DMSO (1 ml) y se purificó mediante MDAP (HpH) para dar el compuesto del título como un sólido de color beige (4,5 mg, 4%). LCMS (HpH) Rt 0,77 min, MH⁺ 425

Ejemplo 13

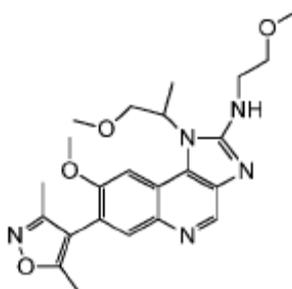
20 **7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-1-[1-metil-2-(metiloxi)etil]-8-(metiloxi)-N-[2-(4-morfolinil)etil]-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-amina**



30 A partir de 7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-6-metoxi-N4-(1-metoxipropan-2-il)quinolin-3,4-diamina (para una preparación, véase el intermedio 19) (70 mg) y 4-(2-isotiocianatoetil)morfolina (50 mg) para dar el compuesto del título como un sólido de color beige (45 mg, 46%). LCMS (formiato) Rt 0,56 min, MH⁺ 495

Ejemplo 14

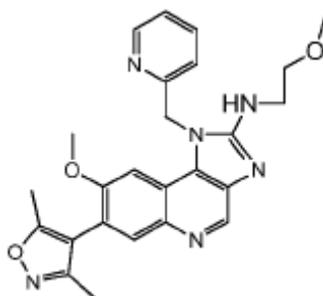
35 **7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-1-[1-metil-2-(metiloxi)etil]-8-(metiloxi)-N-[2-(metiloxi)etil]-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-amina**



A partir de 7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-6-metoxi-N4-(1-metoxipropan-2-il)quinolin-3,4-diamina (para una preparación, véase el intermedio 19) (70 mg) y 1-isotiocianato-2-(metiloxi)etano (50 mg) para dar el compuesto del título como un sólido de color beige (41 mg, 47%). LCMS (formiato) Rt 0,56 min, MH⁺ 440.

Ejemplo 15

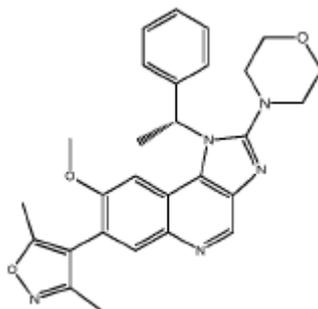
7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-8-(metiloxi)-N-[2-(metiloxi)etil]-1-(2-piridinilmetil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-amina



Se disolvió 7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-6-metoxi-N4-(piridin-2-ilmetil)quinolin-3,4-diamina (35 mg, 0,093 mmol) en etanol (5 ml) y se añadió isotiocianato de 2-metoxietil (22 mg, 0,186 mmol), a continuación, la solución se calentó a 60°C durante 3 horas, se enfrió y se evaporó en vacío. El residuo se disolvió en THF (5,0 ml) y se añadió EDC (35,7 mg, 0,186 mmol), a continuación, la solución se calentó a 60°C durante 3 horas, se enfrió y se evaporó en vacío y el residuo se purificó mediante MDAP (formiato) para dar 7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-8-metoxi-N-(2-metoxietil)-1-(piridin-2-ilmetil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-amina (25 mg, 0,055 mmol, rendimiento del 58,5%) como un sólido de color beige. LCMS (formiato) Rt 0,66 min, MH⁺ 459

Ejemplo 16

7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-8-(metiloxi)-2-(4-morfolinil)-1-[(1R)-1-feniletil]-1H-imidazo[4,5-c]quinolina

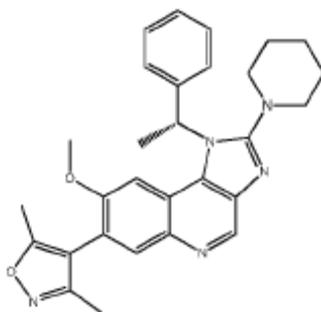


Se disolvió 7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-8-(metiloxi)-1-[(1R)-1-feniletil]-1,3-dihidro-2H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona (para una preparación, véase el intermedio 11) (0,16 g, 0,386 mmol) en POCl₃ (1 ml, 10,73 mmol) y se calentó a 100°C durante 3 días. La mezcla de reacción se evaporó en vacío para dar una goma de color negro. El residuo se disolvió en NMP (2 ml) y se añadió morfolina (2 ml, 22,96 mmol), a continuación, la solución se calentó en el microondas a 150°C durante 1 hora. La mezcla de reacción se cargó en un cartucho SCX-2 de 20 g y se lavó con metanol (40 ml), a continuación, se eluyó con amoníaco metanólico 2 M y el eluyente se evaporó en vacío para dar un aceite de color ámbar. Se disolvió en DMSO (1 ml) y se purificó mediante MDAP (HpH) para dar 7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-8-(metiloxi)-2-(4-morfolinil)-1-[(1R)-1-feniletil]-1H-imidazo[4,5-c]quinolina (1,4 mg, 2,90 μmoles, rendimiento del 0,750%). LCMS (formiato) Rt 0,86 min, MH⁺ 484

Ejemplo 17

7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-8-(metiloxi)-1-[(1R)-1-feniletil]-2-(1-piperidinil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolina

5



10

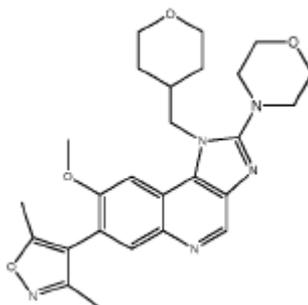
15

Se disolvió 2-cloro-7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-8-(metiloxi)-1-[(1R)-1-feniletíl]-1H-imidazo[4,5-c]quinolina (30 mg, 0,069 mmol) (para una preparación, véase el intermedio 12) en NMP (0,5 ml), se añadió piperidina (0,2 ml, 2,020 mmol) y la mezcla se calentó a 150°C durante 30 minutos, a continuación, se enfrió, se añadió a agua (10 ml) y se extrajo con EtOAc (10 ml). El disolvente se lavó con agua (2 x 10 ml), se secó y se evaporó. El residuo se disolvió en DCM (2 ml), se cargó en una columna de sílice de 10 g, se eluyó con amoníaco metanólico 2 M/DCM (0-10%) y las fracciones que contenían el producto se evaporaron en vacío para dar 7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-8-(metiloxi)-1-[(1R)-1-feniletíl]-2-(1-piperidinil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolina (18 mg, 0,037 mmol, rendimiento del 53,9%) como un sólido de color ámbar. LCMS (formiato) Rt 1,05 min, MH⁺ 482

Ejemplo 18

7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-8-(metiloxi)-2-(4-morfolinil)-1-(tetrahidro-2H-piran-4-ilmetil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolina

20



25

30

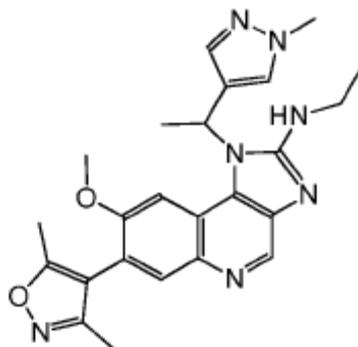
35

Se disolvió 7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-8-(metiloxi)-1-(tetrahidro-2H-piran-4-ilmetil)-1,3-dihidro-2H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona (220 mg, 0,539 mmol) (para una preparación véase el intermedio 14) en POCl₃ (2 ml, 21,46 mmol), PCl₅ (0,2 g, 0,960 mmol) y la mezcla se calentó a 120°C durante 24 horas. La mezcla de reacción se evaporó en vacío para dar un sólido de color beige. El sólido se disolvió en NMP (0,5 ml) y se añadió morfolina (0,3 ml, 3,44 mmol), a continuación, la solución se calentó en el microondas a 150°C durante 1 hora. La solución se cargó en un cartucho SCX-2 de 20 g y se lavó con metanol (30 ml), a continuación, se eluyó con amoníaco metanólico 2 M (30 ml) y el eluyente se evaporó en vacío para dar una goma de color beige. Esta se disolvió en DCM (3 ml) y se cargó en una columna de sílice de 25 g, a continuación, se eluyó con amoníaco metanólico 2 M/DCM (0-10%, 25 volúmenes de columna) y las fracciones que contenían el producto se evaporaron en vacío para dar 7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-8-(metiloxi)-2-(4-morfolinil)-1-(tetrahidro-2H-piran-4-ilmetil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolina (4,7 mg, 9,84 μmoles, rendimiento del 1,827%) como un sólido de color beige. LCMS (formiato) Rt 0,70 min, MH⁺ 478

Ejemplo 19

7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-N-etil-8-metoxi-1-(1-(1-metil-1H-pirazol-4-il)etil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-amina

5



10

15

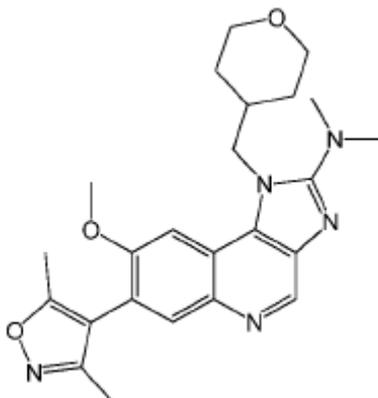
Se disolvió 7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-6-metoxi-N4-(1-(1-metil-1H-pirazol-4-il)etil)quinolin-3,4-diamina (70 mg, 0,178 mmol), para una preparación véase el intermedio 22) en etanol (5 ml) y se añadió etilisotiocianato (31,1 mg, 0,357 mmol). La solución se calentó a 60°C durante 3 horas, a continuación, se enfrió y se evaporó en vacío. El residuo se disolvió en THF y se calentó a 60°C durante 4 horas, a continuación, se evaporó en vacío y el residuo se disolvió en DMSO y se purificó mediante MDAP (procedimiento fórmico). Las fracciones que contenían el producto se evaporaron en vacío para dar 7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-N-etil-8-metoxi-1-(1-(1-metil-1H-pirazol-4-il)etil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-amina (32 mg, 0,072 mmol, rendimiento del 40,3%) como un sólido de color beige. LCMS (formiato) Rt 0,71 min, MH⁺ no encontrado.

Ejemplo 20

7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-8-metoxi-N,N-dimetil-1-((tetrahidro-2H-piran-4-il)metil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-amina

20

25



30

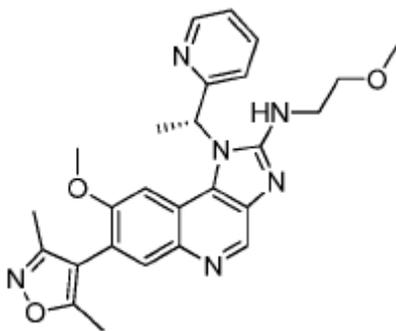
35

Se combinaron 7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-6-metoxi-N⁴-((tetrahidro-2H-piran-4-il)metil)quinolin-3,4-diamina (para la preparación, véase el intermedio 17) (50 mg, 0,131 mmol) y cloruro de N-(diclorometileno)-N-metilmetanamnio (42,5 mg, 0,261 mmol) en acetonitrilo anhidro (0,5 ml) y se calentó a 120°C durante 10 minutos (microondas). La mezcla de reacción se redujo hasta la sequedad bajo una corriente de nitrógeno y el residuo se disolvió en DMSO (1 ml) y se purificó mediante MDAP (HpH). El disolvente se evaporó bajo una corriente de nitrógeno para dar 7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-8-metoxi-N,N-dimetil-1-((tetrahidro-2H-piran-4-il)metil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-amina (44 mg, 0,101 mmol, rendimiento del 77%) como una goma de color amarillo. LCMS (formiato) Rt 0,70 min, MH⁺ 436

Ejemplo 21

7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-8-metoxi-N-(2-metoxietil)-1-((R)-1-(piridin-2-il)etil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-amina

40



5

10 A una solución de 7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-6-metoxi-N⁴-((R)-1-(piridin-2-il)etil)quinolin-3,4-diamina (para una preparación, véase el intermedio 25) (538 mg, 1,38 mmol) en EtOH (40 ml) se añadió 1-isotiocianato-2-metoxietano (0,30 ml, 2,76 mmol) y la mezcla se calentó a 60°C durante 5,5 horas. Se añadió una porción adicional de 1-isotiocianato-2-metoxietano (0,15 ml, 1,38 mmol) y la mezcla de reacción se calentó a 60°C durante la noche. La mezcla se concentró en vacío, el residuo se disolvió en THF (40 ml), se añadió EDC (530 mg, 2,76 mmoles) y la mezcla se calentó a 60°C durante 4 horas. La mezcla se concentró en vacío y el residuo se purificó mediante cromatografía (columna de 100 g, gradiente amoníaco metanólico 2M/DCM) para dar el producto crudo que se purificó adicionalmente mediante MDAP (HpH) para dar 7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-8-metoxi-N-(2-metoxietil)-1-((R)-1-(piridin-2-il)etil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-amina (122 mg, 0,258 mmol, rendimiento del 19%) como un sólido de color blanco. LCMS: (Formiato, 2 min), Rt 0,73 min, MH⁺ 473.

15

Compuestos de referencia

20 Los detalles experimentales de los procedimientos LC-MS D y F, tal como se hace referencia en los compuestos de referencia a continuación, son los siguientes:

25 Se llevó a cabo LC/MS (Procedimiento D) en una columna Supelcosil LCABZ+PLUS (3 µm, 3,3 cm x 4,6 mm ID) eluyendo con HCO₂H al 0,1% y acetato de amonio 0,01 M en agua (disolvente A) y 95% de acetonitrilo y 0,05% de HCO₂H en agua (disolvente B), usando el siguiente gradiente de elución 0-0,7 minutos 0% de B, 0,7-4,2 minutos 0→100% de B, 4,2-5,3 minutos 100% de B, 5,3-5,5 minutos 100→0% de B a un caudal de 3 ml/minuto. Los espectros de masas (MS) se registraron en un espectrómetro de masas Fisons VG Platform usando modos de ionización positiva por electropulverización [(ES+ve para dar iones moleculares [M+H]⁺ y [M+NH₄]⁺) o ionización negativa por electropulverización [(ES-ve para dar ión molecular [M-H]⁻]. Los datos analíticos obtenidos usando este aparato se proporcionan con el siguiente formato: [M+H]⁺ o [M-H]⁻.

25

30 Se llevó a cabo LC/MS (Procedimiento F) en una columna Sunfire C18 (30 mm x 4,6 mm i.d. 3,5 µm de diámetro de empaque) a 30 grados centígrados, eluyendo con una solución al 0,1% v/v de ácido trifluoroacético en agua (disolvente A) y una solución al 0,1% v/v de ácido trifluoroacético en acetonitrilo (disolvente B) usando el siguiente gradiente de elución 0-0,1 min 3% de B, 0,1-4,2 min 3-100% de B, 4,2-4,8 min 100% de B, 4,8-4,9 min 100-3% de B, 4,9-5,0 min 3% de B a un caudal de 3 ml/min. La detección UV fue una señal promediada de una longitud de onda de 210 nm a 350 nm y los espectros de masas se registraron en un espectrómetro de masas usando ionización por electropulverización positiva. Los datos de ionización se redondearon al entero más próximo.

35

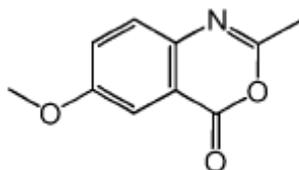
40 LC/HRMS: La HPLC analítica se llevó a cabo en una columna Uptisphere-hsc (3 µm 33 x 3 mm id) eluyendo con acetato de amonio 0,01 M en agua (disolvente A) y acetonitrilo al 100% (disolvente B) usando el siguiente gradiente de elución 0-0,5 minutos 5% de B, 0,5-3,75 minutos 5→100% de B, 3,75-4,5 100% B, 4,5-5 100→5% de B, 5-5,5% de B a un caudal de 1,3 ml/minuto. Los espectros de masas (MS) se registraron en un espectrómetro de masas LCT de micromasa usando modos de ionización positiva por electrovaporización [ES+ve para dar iones moleculares MH⁺] o ionización negativa por electrovaporización [ES-ve para dar iones moleculares (M-H)⁻].

40

La CCF (cromatografía de capa fina) se refiere al uso de placas de CCF comercializadas por Merck revestidas con gel de sílice 60 F254.

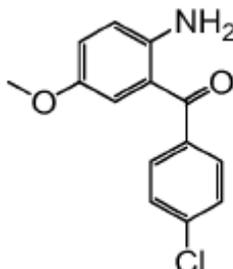
Compuesto de referencia A: 2-metil-6-(metiloxi)-4H-3,1-benzoxazin-4-ona

45



Una solución de ácido 5-metoxiantranílico (Lancaster) (41,8 g, 0,25 mol) se sometió a reflujo en anhídrido acético (230 ml) durante 3,5 horas antes de ser concentrada a presión reducida. A continuación, el compuesto crudo se concentró dos veces en presencia de tolueno antes de ser filtrado y lavado dos veces con éter para proporcionar el compuesto del título (33,7 g, rendimiento del 71%) como un sólido de color marrón; LC/MS (Procedimiento D): m/z 192 [M+H]⁺, Rt 1,69 min.

Compuesto de referencia B: [2-amino-5-(metiloxi)fenil](4-clorofenil)metanona



10

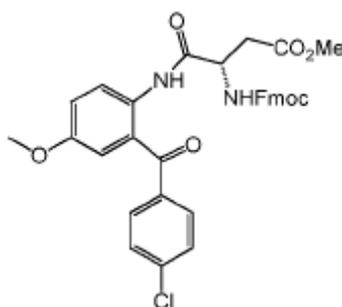
15

20

A una solución de 2-metil-6-(metiloxi)-4H-3,1-benzoxazin-4-ona (para una preparación, véase el compuesto de referencia A) (40,0 g, 0,21 mol) en una mezcla (2/1) de tolueno/éter (760 ml) a 0°C se añadió gota a gota una solución de bromuro de 4-clorofenilmagnesio (170 ml, 1 M en éter dietílico, 0,17 moles). La mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 1 hora antes de ser desactivada con HCl 1N (200 ml). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 150 ml) y los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (100 ml), se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron a presión reducida. A continuación, el compuesto crudo se disolvió en etanol (400 ml) y se añadió HCl 6 N (160 ml). La mezcla de reacción se sometió a reflujo durante 2 horas antes de ser concentrada a un tercio en volumen. El sólido resultante se filtró y se lavó dos veces con éter antes de ser suspendido en EtOAc y neutralizado con hidróxido sódico 1N. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 150 ml) y los compuestos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (150 ml), se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El compuesto del título se obtuvo como un sólido de color amarillo (39 g, rendimiento del 88%); LC/MS (Procedimiento D): m/z 262 [M+H]⁺, Rt 2,57 min.

25

Compuesto de referencia C: N¹-[2-[(4-clorofenil)carbonil]-4-(metiloxi)fenil]-N²-[[9H-fluoren-9-ilmetil]oxi]carbonil]-L-α-asparaginata

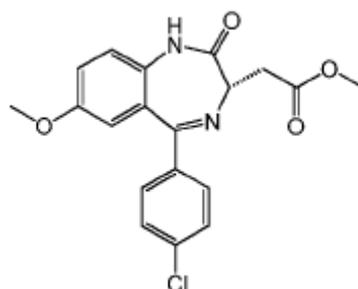


30

35

Se disolvió N-[[9H-fluoren-9-ilmetil]oxi]carbonil]-L-α-aspartilo cloruro de metilo (Int. J. Peptide Protein Res. 1992,40, 13-18) (93 g, 0,24 moles) en CHCl₃ (270 ml) y se añadió [2-amino-5-(metiloxi)fenil](4-clorofenil)metanona (para una preparación, véase el compuesto de referencia B) (53 g, 0,2 moles). La mezcla resultante se agitó a 60°C durante 1 hora antes de ser enfriada y concentrada al 60% en volumen. Se añadió éter a 0°C y el precipitado resultante se filtró y se desechó. El filtrado se concentró a presión reducida y se usó sin purificación adicional.

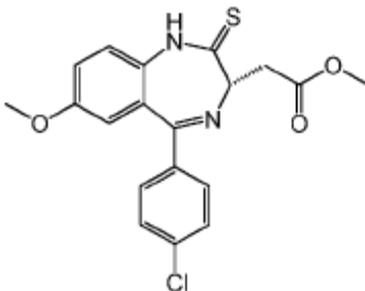
Compuesto de referencia D: [(3S)-5-(4-clorofenil)-7-(metiloxi)-2-oxo-2,3-dihidro-1H-1,4-benzodiazepin-3-il]acetato de metilo



40

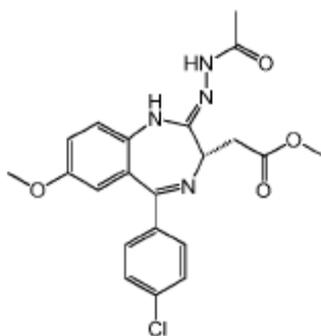
A una solución de N1-[2-[(4-clorofenil)carbonil]-4-(metiloxi)fenil]-N2-[[9H-fluoren-9-ilmetil]oxi]carbonil]-L- α -asparaginato de metilo (para una preparación, véase el compuesto de referencia C) (supuestos 0,2 moles) en DCM (500 ml) se añadió Et₃N (500 ml, 3,65 mol) y la mezcla resultante se sometió a reflujo durante 24 horas antes de ser concentrada. La amina cruda resultante se disolvió en 1,2-DCE (1,5 l) y se añadió cuidadosamente AcOH (104 ml, 1,8 mol). La mezcla de reacción se agitó a continuación a 60°C durante 2 horas antes de ser concentrada en vacío y disuelta en DCM. La capa orgánica se lavó con HCl 1 N y la capa acuosa se extrajo con DCM (x3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron dos veces con agua y salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El sólido crudo se recrystalizó en MeCN conduciendo al compuesto del título (51 g) como un sólido de color amarillo pálido. El filtrado puede concentrarse y recrystalizarse en MeCN para dar a otros 10 g del producto deseado R_f = 0,34 (DCM/MeOH: 95/5). HRMS MH⁺ calculado para C₁₉H₁₈³⁵ClN₂O₄ 373,0955; Encontrado 373,0957.

Compuesto de referencia E: [(3S)-5-(4-clorofenil)-7-(metiloxi)-2-tioxo-2,3-dihidro-1H-1,4-benzodiazepin-3-il]acetato de metilo



Una suspensión de P₄S₁₀ (36,1 g, 81,1 mmol) y Na₂CO₃ (8,6 g, 81,1 mmol) en 1,2-DCE (700 ml) a temperatura ambiente se agitó durante 2 horas antes de la adición de [(3S)-5-(4-clorofenil)-7-(metiloxi)-2-oxo-2,3-dihidro-1H-1,4-benzodiazepin-3-il]acetato de metilo (para una preparación, véase el compuesto de referencia D) (16,8 g, 45,1 mmol). La mezcla resultante se agitó a 70°C durante 2 horas antes de ser enfriada y filtrada. El sólido se lavó dos veces con DCM y el filtrado se lavó con hidrogenocarbonato sódico saturado y salmuera. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró a presión reducida. El producto crudo se purificó mediante cromatografía flash sobre gel de sílice (DCM/MeOH: 99/1) para proporcionar el compuesto del título (17,2 g, rendimiento del 98%) como un sólido de color amarillo. LC/MS (Procedimiento D): m/z 389 [M (³⁵Cl)+H]⁺, Rt 2,64 min HRMS MH⁺ calculado para C₁₉H₁₈³⁵ClN₂O₃S 389,0727; Encontrado 389,0714.

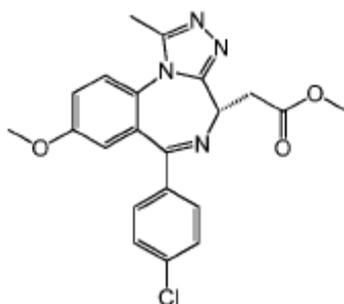
Compuesto de referencia F: [(3S)-2-[(1Z)-2-acetilhidrazin]-5-(4-clorofenil)-7-(metiloxi)-3H-1,4-benzodiazepin-3-il]acetato de metilo



A una suspensión de [(3S)-5-(4-clorofenil)-7-(metiloxi)-2-tioxo-2,3-dihidro-1H-1,4-benzodiazepin-3-il]acetato de metilo (para una preparación, véase el compuesto de referencia E) (9,0 g, 23,2 mmol) en THF (300 ml) a 0°C se añadió gota a gota monohidrato de hidrazina (3,4 ml, 69,6 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 5 horas entre 5°C y 15°C antes de ser enfriada a 0°C. A continuación, se añadió lentamente Et₃N (9,7 ml, 69,6 mmol) y se añadió gota a gota cloruro de acetilo (7,95 ml, 69,6 mmol). A continuación, la mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente durante 16 horas antes de concentrar bajo presión reducida. El producto crudo se disolvió en DCM y se lavó con agua. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró en vacío para dar el compuesto crudo del título (9,7 g, rendimiento del 98%) que se usó sin purificación adicional. R_f = 0,49 (DCM/MeOH: 90/10).

Compuesto de referencia G: [(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]acetato de metilo

5



10

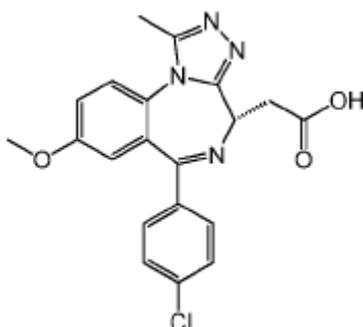
El [(3S)-2-[(1Z)-2-acetilhidrazin]-5-(4-clorofenil)-7-(metiloxi)-3H-1,4-benzodiazepin-3-il]acetato de metilo crudo (para una preparación, véase el compuesto de referencia F) (supuesto 9,7 g) se suspendió en THF (100 ml) y se añadió AcOH (60 ml) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a esta temperatura durante 2 días antes de ser concentrada a presión reducida. El sólido crudo se trituró en *i*-Pr₂O y se filtró para dar el compuesto del título (8,7 g, 91% en 3 etapas) como un sólido blanquecino.

HRMS MH⁺ calculado para C₂₁H₂₀ClN₄O₃ 411.1229; Encontrado 411,1245.

15

Compuesto de referencia H: Ácido [(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]acético

20



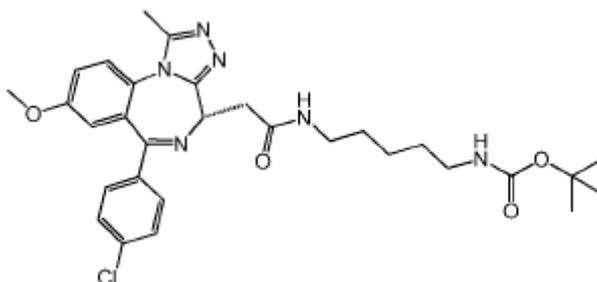
25

A una solución de [(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]acetato de etilo (para una preparación, véase el compuesto de referencia G) (7,4 g, 18,1 mmol) en THF (130 ml) a temperatura ambiente se añadió hidróxido sódico 1N (36,2 ml, 36,2 mmol). La mezcla de reacción se agitó a esta temperatura durante 5 horas antes de ser desactivada con HCl 1 N (36,2 ml) y concentrada en vacío. A continuación, se añadió agua y la capa acuosa se extrajo con DCM (x3) y las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron a presión reducida para dar el compuesto del título (7 g, rendimiento del 98%) como un sólido de color amarillo pálido.

30

Compuesto de referencia H: [5-(((4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]acetil)amino)pentil]carbamato de 1,1-dimetiletilo

35

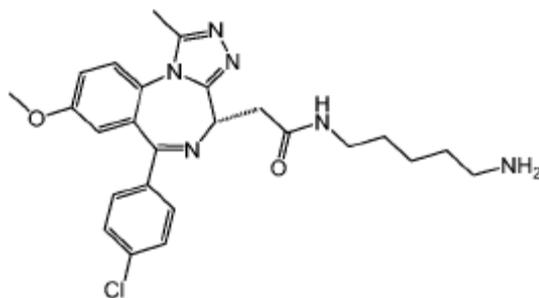


40

Una mezcla de ácido [(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]acético (para una preparación, véase el compuesto de referencia G) (1,0 g, 2,5 mmoles), HATU (1,9 g, 5 mmol) y DIPEA (0,88 ml, 5 mmol) se agitó durante 80 minutos a temperatura ambiente, a esta se añadió (4-aminobutil)carbamato de 1,1-dimetiletilo (1,05 ml, 5,0 mmol, disponible en Aldrich). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas antes de ser concentrada. El residuo se recogió en diclorometano y se lavó con HCl 1N.

La capa acuosa se extrajo dos veces con diclorometano. La capa orgánica se lavó con hidróxido de sodio 1N, seguido de una solución saturada de cloruro sódico, se secó sobre sulfato sódico y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía flash sobre sílice usando diclorometano/metanol 95/5 para dar el compuesto del título como un sólido de color amarillo (1,2 g). LC/MS (Procedimiento D): $r_t = 3,04$ min.

5 **Compuesto de referencia J: Trifluoroacetato de N-(5-aminopentil)-2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]acetamida**

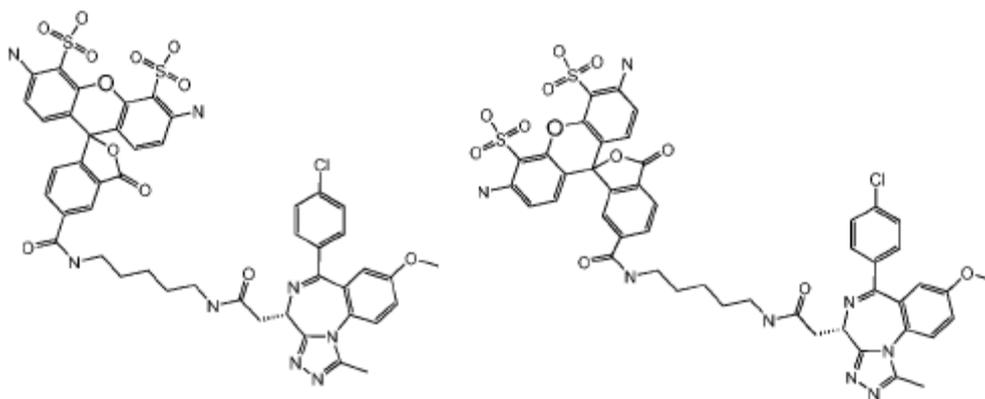


15 A una solución de [5-(((4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]acetil)amino)pentil]carbamato de 1,1-dimetiletilo (para una preparación, véase el compuesto de referencia H) (0,2 g, 0,34 mmol) en diclorometano (3 ml), 0,68 mmol) gota a gota a 0°C. La mezcla de reacción se agitó durante 3 horas de 0°C a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró hasta la sequedad para proporcionar el compuesto del título como un aceite de color amarillo higroscópico (200 mg)

LC/MS (Procedimiento D): $r_t = 2,33$ min.

HRMS MH^+ calculado para $C_{25}H_{29}ClN_6O_2$ 481.2119; Encontrado 481,2162.

20 **Compuesto de referencia K: Mezcla de isómeros 5- y 6- de Alexa Fluor 488-N-(5-aminopentil)-2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]acetamida**



30 Se disolvió N-(5-aminopentil)-2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il] acetamida (para una preparación, véase el compuesto de referencia J) (7,65 mg, 0,013 mmol) en N,N-dimetilformamida (DMF) (300 μ l) y se añadió a Alexa Fluor 488 éster succinimidílico de ácido carboxílico (5 mg, 7,77 μ mol, mezcla de isómeros 5 y 6, disponible en Invitrogen, número de producto A-20100) en un tubo de centrifuga Eppendorf. Se añadió la base de Hunig (7,0 μ l, 0,040 mmol) y la mezcla se agitó mediante vórtice durante la noche.
35 Después de 18 horas, la mezcla de reacción se evaporó hasta la sequedad y el residuo se volvió a disolver en DMSO/agua (50%, <1 ml total), se aplicó a una columna preparativa Phenomenex Jupiter C18 y se eluyó con un gradiente de 95% de A: 5% de B a 100% de B (A = ácido trifluoroacético al 0,1% en agua, B = 0,1% de TFA/90% de acetonitrilo/10% de agua) a un caudal de 10 ml/min durante 150 minutos. Las fracciones impuras se combinaron y se volvieron a purificar usando el mismo sistema. Las fracciones se combinaron y se evaporaron para producir el producto del título (2,8 mg) como una mezcla de los 2 regioisómeros mostrados. LC/MS (Procedimiento F): $MH^+ = 999$, $r_t = 1,88$ min.

Procedimientos de ensayos biológicos

Ensayo de unión de anisotropía de fluorescencia

La unión de los compuestos de fórmula (I) a un bromodominio BRD2, BRD3 y BRD4 puede evaluarse usando un ensayo de unión de anisotropía de fluorescencia.

5 La proteína bromodominio, el ligando fluorescente (véase el compuesto de referencia K) y una concentración variable del compuesto de ensayo se incubaron juntos para alcanzar el equilibrio termodinámico bajo condiciones tales que, en ausencia del compuesto de ensayo, el ligando fluorescente está significativamente unido (> 50%) y, en presencia de una concentración suficiente de un potente inhibidor, la anisotropía del ligando fluorescente no unido es sensiblemente diferente del valor unido.

Todos los datos se normalizaron a la media de los 16 pocillos de control alto y 16 pocillos de control bajo en cada placa. A continuación, se aplicó un ajuste de curva de cuatro parámetros de la siguiente forma:

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

En la que 'a' es el mínimo, 'b' es la pendiente, 'c' es el valor pIC₅₀ y 'd' es el máximo.

15 Los bromodominios recombinantes humanos (bromodominio BRD2 (1-473), bromodominio BRD3 (1-435) y bromodominio BRD4 (1-477)) se expresaron en células de *E coli* (en un vector pET15b) con un marcador seis-His en el terminal N. El bromodominio marcado con His se extrajo de *E coli* usando 0,1 mg/ml de lisozima y sonicación. A continuación, el bromodominio se purificó mediante cromatografía de afinidad en una columna HisTRAP HP, eluyendo con un gradiente lineal de 10-500 mM de Imidazol, en 20 Cv. La purificación adicional se completó con una columna de exclusión Superdex 200 de tamaño de grado de preparación. La proteína purificada se almacenó a -80 °C en HEPES 20 mM pH 7,5 y NaCl 100 mM.

20 Protocolo para el bromodominio BRD2: Todos los componentes se disolvieron en una composición de tampón de HEPES 50 mM pH 7,4, NaCl 150 mM y CHAPS 0,5 mM con concentraciones finales de bromodominio 2, 75 nM, ligando fluorescente 5 nM. Se añadieron 10 µl de esta mezcla de reacción usando un micropunto multipunto a pocillos que contenían 100 nl de varias concentraciones del compuesto de ensayo o vehículo DMSO (1% final) en una placa de microtitulación Greer 384, negra, de bajo volumen, y se equilibró en la oscuridad durante 60 min a temperatura ambiente. La anisotropía de fluorescencia se leyó en Envision (λ_{ex} = 485 nm, λ_{em} = 530 nm, dicroico - 505 nm).

25 Protocolo para el bromodominio BRD3: Todos los componentes se disolvieron en tampón de composición HEPES 50 mM pH 7,4, NaCl 150 mm y CHAPS 0,5 mM con concentraciones finales de bromodominios 3 75 nM, ligando fluorescente 5 nM. Se añadieron 10 µl de esta mezcla de reacción usando un micropunto múltiple a pocillos que contenían 100 nl de varias concentraciones de compuesto de ensayo o vehículo DMSO (1% final) en placa de microtitulación Greer 384, negra, de bajo volumen, y se equilibró en la oscuridad durante 60 minutos a temperatura ambiente. La anisotropía de fluorescencia se leyó en Envision (λ_{ex} = 485 nm, λ_{em} = 530 nm, dicroico -505 nm).

30 Protocolo para el bromodominio BRD4: Todos los componentes se disolvieron en tampón de composición HEPES 50 mM pH 7,4, NaCl 150 mm y CHAPS 0,5 mM con concentraciones finales de bromodominio 4 75 nM, ligando fluorescente 5 nM. Se añadieron 10 µl de esta mezcla de reacción usando un micropunto múltiple a pocillos que contenían 100 nl de varias concentraciones de compuesto de ensayo o vehículo DMSO (1% final) en placa de microtitulación Greer 384, negra, de bajo volumen, y se equilibró en la oscuridad durante 60 minutos a temperatura ambiente. La anisotropía de fluorescencia se leyó en Envision (λ_{ex} = 485 nm, λ_{em} = 530 nm, dicroico-505 nm).

Ensayo de transferencia de energía por resonancia de fluorescencia (TR-FRET) con resolución temporal

40 La unión de los compuestos de fórmula (I) a los bromodominios BRD2, BRD3 y BRD4 se evaluó usando un ensayo de unión por transferencia de energía por resonancia fluorescente con resolución temporal, que mide la unión de un péptido de histona acetilado a la proteína bromodominio.

45 La proteína bromodominio, el péptido de histona y una concentración variable del compuesto de ensayo se incubaron juntos para alcanzar el equilibrio termodinámico. El ensayo está configurado de manera que, en ausencia del compuesto de ensayo, el bromodominio y el péptido están significativamente unidos (~ 30%) y, en presencia de una concentración suficiente de un potente inhibidor, esta interacción se interrumpe conduciendo a una caída medible en la transferencia de energía por resonancia fluorescente.

Péptido de histona:

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

El péptido protegido se ensambló en un sintetizador en fase sólida usando resina Wang precargada y utilizando protocolos de síntesis Fmoc estándar. La lisina C-terminal se protegió con un grupo lábil a hiperácido que permitía su eliminación selectiva al final del ensamblaje y la unión de la biotina. El péptido crudo se obtuvo después de la escisión de la resina con una mezcla de ácido trifluoroacético (TFA), triisopropilsilano y agua (95:2,5:2,5) durante 3 horas a temperatura ambiente y, a continuación, se purificó usando una columna de fase inversa C18 utilizando un gradiente de agua/acetonitrilo tamponado con TFA al 0,1%. Las fracciones resultantes se analizaron y las fracciones con una pureza > 95%, según HPLC analítica, y que daban el mw correcto (mediante espectroscopia de masa MALDI-TOF) se reunieron y se liofilizaron. El material final se analizó mediante HPLC para confirmar la pureza.

Producción de proteínas: Los bromodominios humanos recombinantes (BRD2 (1-473), BRD3 (1-435) y BRD4 (1-477)) se expresaron en células *E coli* (en un vector pET15b) con un marcador seis-His en el terminal N. El bromodominio marcado con His se extrajo de *E coli* usando sonicación y se purificaron usando una columna sepharose 6FF de níquel, las proteínas se lavaron y, a continuación, se eluyeron con Tris-HCl 50 mM, pH 8,0. NaCl 300 mM, β-mercaptoetanol 1 mM e Imidazol 20 mM. Se realizó una purificación adicional mediante cromatografía de afinidad en una columna HisTRAP HP, eluyendo con un gradiente lineal de cloruro sódico de 0-500 mM, en 20 volúmenes de columna. La purificación final se completó con la columna de exclusión Superdex 200 de tamaño de preparación. La proteína purificada se almacenó a -80°C en HEPES 20 mM pH 7,5 y NaCl 100 mM. La identidad de las proteínas se confirmó mediante huella dactilar en masa de péptidos y el peso molecular predicho se confirmó mediante espectrometría de masas.

Protocolo para los ensayos de bromodominios BRD2, 3 y 4: Todos los componentes del ensayo se disolvieron en una composición de tampón de HEPES 50 mM pH 7,4, NaCl 50 mM y CHAPS 0,5 mM. La concentración final de las proteínas de bromodominio fue de 100 nM y el péptido de histona fue de 300 nM, estos componentes se mezclaron previamente y se permitió que se equilibraran durante 1 hora en la oscuridad. Se añadieron 8 µl de esta mezcla de reacción a todos los pocillos que contenían 50 nl de varias concentraciones de compuesto de ensayo o vehículo DMSO (0,5% final) en placas de microtitulación Greiner 384, negras, de bajo volumen, y se incubaron en oscuridad durante 60 minutos a temperatura ambiente. Se añadieron 2 µl de mezcla de detección que contenía anticuerpo marcado con XL665 anti-6h y estreptavidina marcada con criptato de europio a todos los pocillos y se realizó una incubación adicional en oscuridad de al menos 30 minutos. A continuación, las placas se leyeron en el lector de placas Envision, (λ_{ex} = 317nm, donante λ_{EM} = 615nm; aceptor λ_{EM} = 665nm; Dicroico LANCE dual). Se realizaron mediciones de intensidad de fluorescencia con resolución temporal a ambas longitudes de onda de emisión y se calculó la relación de aceptor/donante y esta se usó para el análisis de los datos. Todos los datos se normalizaron a la media de 16 pocillos de control alto y los 16 pocillos de control bajo en cada placa. A continuación, se aplicó un ajuste de curva de cuatro parámetros de la siguiente forma:

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

En la que 'a' es el mínimo, 'b' es la pendiente, 'c' es el pIC50 y 'd' es el máximo.

Los ejemplos 1-21 se ensayaron en cada uno de los ensayos anteriores y se encontró que tenían un valor pIC50 comprendido en el intervalo de 6,0 a 7,3. Se encontró que los ejemplos 1, 4, 6-10, 13, 15-18, 20 y 21 tenían un valor pIC50 comprendido en el intervalo de 7,0 a 7,3 en al menos uno de los ensayos anteriores.

Medición de la secreción de IL-6 inducida por LPS de sangre completa

La activación de células monocíticas por agonistas de receptores de tipo toll, tales como lipopolisacárido bacteriano (LPS), resulta en la producción de mediadores inflamatorios clave, incluyendo IL-6. Se considera en general que dichas vías son centrales para la fisiopatología de una serie de trastornos autoinmunes e inflamatorios.

Los compuestos a ensayar se diluyen para dar una gama de concentraciones apropiadas de las cuales 1 µl de las existencias diluidas se añade a una placa de 96 pocillos. Después de la adición de sangre completa (130 µl), las placas se incuban a 37°C (5% de CO₂) durante 30 minutos antes de la adición de 10 µl de 2,8 µg/ml de LPS, diluido en RPMI 1640 completo (concentración final = 200 ng/ml), para dar un volumen total de 140 µl por pocillo. Después de una incubación adicional durante 24 horas a 37 grados, se añadieron 140 µl de PBS a cada pocillo. Las placas se sellaron, se agitaron durante 10 minutos y, a continuación, se centrifugaron (2.500 rpm x 10 min). Se retiraron 100 µl del sobrenadante y los niveles de IL-6 se ensayaron mediante inmunoensayo (típicamente mediante la tecnología MesoScale Discovery), bien inmediatamente o bien después de un almacenamiento a -20 grados. Se generaron curvas de respuesta de concentración para cada compuesto a partir de los datos y un se calculó un valor IC₅₀.

Se encontró que los ejemplos 1-3, 6-11, 14, 18, 20 y 21 que se ensayaron en el ensayo anterior tenían un valor pIC50 comprendido en el intervalo 5 5-7,0 aparte de los ejemplos 2 y 8 que tenían un valor pIC50 < 5,5.

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

Modelo In vivo de endotoxemia de ratón

5 Las altas dosis de endotoxina (lipopolisacárido bacteriano) administradas a los animales producen un síndrome de choque profundo que incluye una fuerte respuesta inflamatoria, desregulación de la función cardiovascular, fallo orgánico y, en última instancia, la muerte. Este patrón de respuesta es muy similar a la sepsis humana y al choque séptico, donde la respuesta del cuerpo a una infección bacteriana significativa puede ser similarmente mortal.

10 Para ensayar los compuestos para su uso en la invención, se administra, mediante inyección intraperitoneal, una dosis letal de 15 mg/kg de LPS a grupos de ocho ratones machos Balb/c. Noventa minutos más tarde, los animales se dosificaron, por vía intravenosa, con vehículo (20% de ciclodextrina 1% de etanol en agua apirógena) o compuesto (10 mg/kg). La supervivencia de los animales se supervisa a los 4 días.

Ensayo oncológico de crecimiento celular

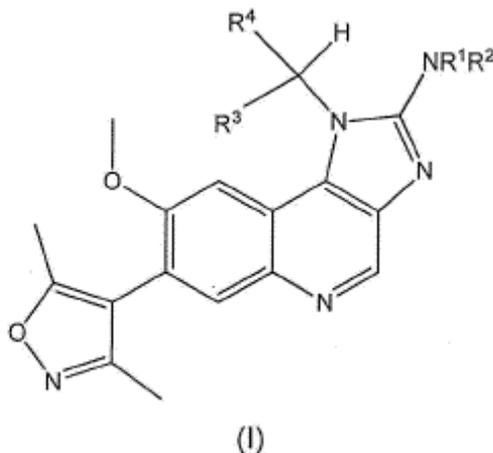
15 Se cultivaron líneas celulares humanas (n = 33 que comprendían 15 líneas celulares heme, 14 líneas celulares de mama y 4 líneas celulares diferentes) en RPMI-1640 que contenía suero bovino fetal al 10%, se sembraron 1.000 células viables por pocillo en placas de poliestireno, negras, fondo plano, de 384 pocillos (Greiner #781086) en 48 µl de medio de cultivo. Todas las placas se colocaron al 5% de CO₂, 37°C durante la noche. Al día siguiente, se recolectó una placa con CellTiter-Glo (CTG, Promega #G7573) durante un tiempo igual a la medición 0 (T0) y se añadió el compuesto (titulación de 20 puntos de 14,7 µM a 7 pM) a las placas restantes. La concentración final de DMSO en todos los pocillos fue del 0,15%. Las células se incubaron durante 72 horas o el tiempo indicado y cada placa se desarrolló con reactivo CellTiter-Glo usando un volumen equivalente al volumen de cultivo celular en los pocillos. Las placas se agitaron durante aproximadamente 2 minutos y la señal quimioluminiscente se leyó en el Analyst GT (Molecular Devices) o EnVision Plate Reader (Perkin Elmer).

25 Los resultados se expresan como un porcentaje del T0 y se representan con relación a la concentración del compuesto. El valor T0 se normalizó al 100% y representa el número de células en el momento de la adición del compuesto y los datos de respuesta a la concentración se ajustaron con un ajuste de curva de 4 parámetros usando el software XLfit (modelo 205). La concentración que inhibió el crecimiento celular en un 50% (glC₅₀) es el punto medio de la "ventana de crecimiento" (entre el T0 y el control DMSO). El valor Ymin - T se determina restando el valor T 0 (100%) del valor Ymin (%) determinado a partir del ajuste de la curva de respuesta a la concentración. Los valores correspondientes a los pocillos sin células fueron restados de todas las muestras para la corrección de fondo.

30

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo



en la que:

R^1 es hidrógeno o alquilo C_{1-3} y R^2 se selecciona de entre

- alquilo C_{1-6} ; y
- alquilo C_{2-6} sustituido con hidroxilo, alcoxi C_{1-4} o un grupo NR^aR^b en la que R^a y R^b son independientemente hidrógeno o alquilo C_{1-4} , o R^a y R^b se combinan junto con el N al que están unidos para formar un anillo heterociclilo; o

R^1 y R^2 se combinan junto con el N al que están unidos para formar un anillo heterociclilo;

R^3 es hidrógeno, alquilo C_{1-3} o CH_2OH ;

R^4 se selecciona de entre

- un grupo fenilo opcionalmente sustituido con alquilo C_{1-4} , CF_3 , halógeno, hidroxilo o alcoxi C_{1-4} ;
- un grupo heteroaromático opcionalmente sustituido con alquilo C_{1-4} , CF_3 , halógeno, hidroxilo o alcoxi C_{1-4} ;
- un grupo tetrahidropiraniilo;
- un grupo tetrahidrofuraniilo;
- un grupo cicloalquilo C_{3-7} ; y
- un grupo CH_2OMe .

2. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo según la reivindicación 1, en el que R^1 y R^2 se combinan junto con el N al que están unidos para formar un anillo piperidinilo o morfolinilo.

3. Compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo según la reivindicación 1, en el que R^1 es hidrógeno y R^2 es alquilo C_{1-4} .

4. Compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo según la reivindicación 1, en el que R^1 es hidrógeno y R^2 es alquilo C_{2-4} sustituido con hidroxilo o metoxilo.

5. Compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo según la reivindicación 4, en el que el grupo alquilo C_{1-4} es etilo.

6. Compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo según la reivindicación 1, en el que R^1 es hidrógeno y R^2 es alquilo C_{2-4} sustituido por NR^aR^b , en la que R^a y R^b son ambos hidrógeno o R^a y R^b se combinan junto con el N al que están unidos para formar un anillo morfolinilo.

7. Compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo según la reivindicación 6, en el que el grupo alquilo C_{2-4} es etilo.

8. Compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en el que R³ es hidrógeno y R⁴ es tetrahidropirano.
9. Compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en el que R³ es hidrógeno o metilo y R⁴ es piridilo o fenilo.
- 5 10. Compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en el que R³ es metilo y R⁴ es un grupo -CH₂OMe.
11. Compuesto según la reivindicación 1, que se selecciona de entre
- 2-({7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-8-(metiloxi)-1-((1R)-1-feniletíl)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-il}amino)etanol;
- 10 2-({7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-8-(metiloxi)-1-(tetrahydro-2H-piran-4-ilmetil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-il}amino)etanol;
- 7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-N-etil-8-(metiloxi)-1-(tetrahydro-2H-piran-4-ilmetil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-amina;
- 7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-N-etil-8-metoxi-1-(1-metoxipropan-2-il)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-amina;
- N1-(7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-8-metoxi-1-((tetrahydro-2H-piran-4-il)metil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-il)etane-1,2-diamina;
- 15 7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-8-(metiloxi)-N-[2-(4-morfolinil)etil]-1-(tetrahydro-2H-piran-4-ilmetil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-amina;
- 7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-8-(metiloxi)-N-[2-(metiloxi)etil]-1-(tetrahydro-2H-piran-4-ilmetil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-amina;
- 7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-N-etil-1-[1-metil-2-(metiloxi)etil]-8-(metiloxi)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-amina;
- 20 N-[7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-1-[1-metil-2-(metiloxi)etil]-8-(metiloxi)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-il]-1,2-etanediamina;
- 7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-1-[1-metil-2-(metiloxi)etil]-8-(metiloxi)-N-[2-(4-morfolinil)etil]-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-amina;
- 25 7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-1-[1-metil-2-(metiloxi)etil]-8-(metiloxi)-N-[2-(metiloxi)etil]-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-amina;
- 7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-8-(metiloxi)-N-[2-(metiloxi)etil]-1-(2-piridinilmetil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-amina;
- 7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-8-(metiloxi)-2-(4-morfolinil)-1-[(1R)-1-feniletíl]-1H-imidazo[4,5-c]quinolina;
- 7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-8-(metiloxi)-1-[(1R)-1-feniletíl]-2-(1-piperidinil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolina;
- 7-(3,5-dimetil-4-isoxazolil)-8-(metiloxi)-2-(4-morfolinil)-1-(tetrahydro-2H-piran-4-ilmetil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolina;
- 30 7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-N-etil-8-metoxi-1-(1-(1-metil-1H-pirazol-4-il)etil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-amina;
- 7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-8-metoxi-N,N-dimetil-1-((tetrahydro-2H-piran-4-il)metil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-amina; y
- 7-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-8-metoxi-N-(2-metoxietil)-1-((R)-1-(piridin-2-il)etil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-amina
- o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 35 12. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como se define en la reivindicación 1 y uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables.
13. Compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como se define en la reivindicación 1 para su uso en terapia.
- 40 14. Compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como se define en la reivindicación 1 para su uso en el tratamiento del cáncer o una afección crónica autoinmune y/o inflamatoria.