

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 644 025**

51 Int. Cl.:

A61P 31/06 (2006.01)

C07D 403/12 (2006.01)

A61K 31/437 (2006.01)

C07D 471/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.07.2014 PCT/US2014/046100**

87 Fecha y número de publicación internacional: **22.01.2015 WO15009525**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.07.2014 E 14745305 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.08.2017 EP 3021947**

54 Título: **Compuestos de azaindol, síntesis de los mismos, y procedimientos de uso de los mismos**

30 Prioridad:

17.07.2013 IN 3196CH2013
30.04.2014 IN CH31962013

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
27.11.2017

73 Titular/es:

**GLOBAL ALLIANCE FOR TB DRUG
DEVELOPMENT (50.0%)
40 Wall Street, 24th Floor
New York, NY 10005, US y
FOUNDATION FOR NEGLECTED DISEASE
RESEARCH (50.0%)**

72 Inventor/es:

SHIRUDE, PRAVIN, S.;
NAIK, MARUTI, N.;
SHINDE, VIKAS, NARAYAN;
PEER MOHAMED, SHAHUL, HAMEED;
CHATTERJI, MONALISA y
SHANDIL, RADHA, K.

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

Observaciones:

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o
Bemerkungen) en el folleto original publicado por
la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 644 025 T3

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

DESCRIPCIÓN

Compuestos de azaindol, síntesis de los mismos, y procedimientos de uso de los mismos

Antecedentes

5 La presente solicitud reivindica el beneficio de la solicitud de patente provisional india n.º 3196/CHE/2013, presentada el 17 de julio de 2013, titulada "*Azaindole Compounds, Synthesis Thereof, and Methods of Using the Same*" (Compuestos de azaindol, síntesis de los mismos, y procedimientos para utilizar los mismos), y también reivindica el beneficio de una segunda solicitud provisional actualizada que tiene el mismo número de serie (3196/CHE/2013) y con fecha de presentación del 30 de abril de 2014.

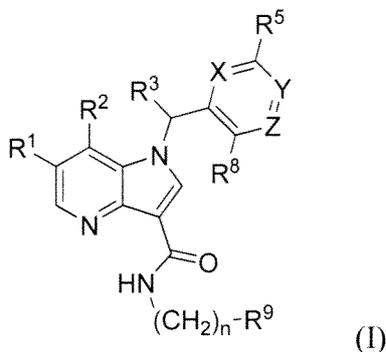
10 La tuberculosis (TB) continúa causando considerable morbilidad y mortalidad en todo el mundo a pesar de disponer de una pauta terapéutica de cuatro fármacos que es eficaz y económica, puesta en marcha hace 40 años (Raviglione, M. y col., *Lancet* 379, 1902-1913 (2012); Organización Mundial de la Salud, *Global Tuberculosis Report* (2012)). El documento WO 2011/113606 desvela compuestos para el tratamiento de enfermedades infecciosas, en particular, la tuberculosis. Es gratificante ver como la Food and Drug Administration (FDA) de los Estados Unidos ha acelerado recientemente la aprobación del fármaco Sirturo (bedaquilina), de Janssen, para su uso en la tuberculosis multirresistente (TBMR), poniendo fin a una pausa de cuatro largas décadas con un nuevo fármaco para la TB que presenta un mecanismo de acción novedoso (Cohen, J. *Science* 339, 130-131 (2013)). Sin embargo, ha de observarse el impacto del Sirturo en la situación actual de la enfermedad y en la vida de los pacientes; en el contexto de los riesgos para la seguridad asociados y en la responsabilidad de los estudios post-marketing.

20 Las nitro-benzotiazinonas (BTZ) y los compuestos relacionados se conocen por inhibir la decaprenilfosforil-β-D-ribosa 2'-epimerasa (DprE1) implicada en la conversión de la decaprenilfosforil-β-D-ribosa (DPR) en decaprenilfosforil-β-D-arabinofuranosa (DPA), un precursor de la pared celular micobacteriana arabinano (Trefzer, C. y col., *J. Am. Chem. Soc.* 132, 13663-13665). Esta reacción se cataliza por una enzima heteromérica decaprenilfosfo-ribosa-2'-epimerasa (DprE), que se produce a través de un mecanismo de oxidación-reducción secuencial que implica un intermedio (decaprenilfosforil-2-keto-β-D-eritro-pentofuranosa, DPX). Esta enzima está compuesta de dos proteínas codificadas por los genes *dprE1* y *dprE2*. La enzima de *dprE1* es la oxidoreductasa que contiene FAD, mientras que el *DprE2* es la reductasa dependiente de NADH (Mikusova, K. y col., *J. Bacteriol.* 187, 8020-8025 (2005); Makarov, V. y col. *Science* 324, 801-804 (2009)).

30 La identificación de BTZ043 como un inhibidor covalente de DprE1 con actividad antimicobacteriana potente confirma la validez de esta diana para una terapia novedosa contra la TB (*Science* 324, 801-804 (2009)). Sin embargo, queda por entender si los inhibidores no nitrogenados del DprE1 derivarán en una eficacia *in vivo*. Así mismo, ¿es la actividad celular nanomolar esencial para la eficacia *in vivo*? Una mayor comprensión relacionada con estos aspectos de la inhibición del DprE1 influirá significativamente en los esfuerzos para descubrir un futuro fármaco contra la TB dirigidos a esta diana. Por lo tanto, existe la necesidad en la técnica de disponer de compuestos adicionales que se dirijan al DprE1 diana.

Sumario de la invención

En algunos aspectos, la invención proporciona, al menos en parte, un compuesto de fórmula (I):



en la que

- 40 R¹ se selecciona entre hidrógeno, flúor, bromo, -OCH₃ y metilo;
 R² es hidrógeno o metilo;
 R³ es hidrógeno o metilo;
 X es N o CR⁴;
 R⁴ se selecciona entre hidrógeno, flúor y -OCH₃;
 R⁵ se selecciona entre hidrógeno, flúor, -CF₃ y -CN;
 45 Y es N o CR⁶;

R⁶ es hidrógeno o metilo;

Z es N o CR⁷;

R⁷ se selecciona entre hidrógeno, flúor, -OCH₃, -OCHF₂, -OCH₂CF₃ y -N(CH₃)₂;

R⁸ se selecciona entre hidrógeno, flúor, metilo y -OCH₃;

5 n es 1 o 2;

R⁹ se selecciona entre flúor, ciclopropilo, -OCH₃, -OH, -OCF₃, -CHF₂, -CH(F)CH₃ y -CH(OH)CH₃, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10 En algunos aspectos, la invención proporciona, al menos en parte, una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un transportador o diluyente farmacéuticamente aceptable.

En algunos aspectos, la invención proporciona un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de la tuberculosis o una infección por *Mycobacterium*.

En algunos aspectos, la invención proporciona un compuesto de la fórmula (I) para su uso en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la tuberculosis o una infección por *Mycobacterium*.

15 En algunos aspectos, la divulgación proporciona un procedimiento para el tratamiento de la tuberculosis o una infección por *Mycobacterium*, que comprende la administración a un sujeto que lo necesita de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la fórmula (I) o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

20 En algunos aspectos, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de la tuberculosis o una infección por *Mycobacterium*.

En algunos aspectos, la invención proporciona un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en la inhibición del DprE1.

En algunos aspectos, la invención proporciona un compuesto de la fórmula (I) para su uso en la fabricación de un medicamento para la inhibición del DprE1.

25 En algunos aspectos, la divulgación proporciona un procedimiento para inhibir el DprE1, que comprende la administración una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En algunos aspectos, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para inhibir el DprE1.

30 **Breve descripción de los dibujos**

La figura 1 ilustra la destrucción celular *in vitro* y la eficacia *in vivo* de a) la cinética de la destrucción celular para el compuesto 3, b) la cinética de la destrucción celular para el compuesto 4, c) la gran eficacia en el modelo de TB de ratón, d) la eficacia crónica en el modelo de TB de ratón.

La figura 2 ilustra la eficacia intracelular de los compuestos 3 y 4 en el modelo THP1.

35 La figura 3 ilustra a) el perfil de tiempo frente al perfil de concentración de los compuestos 3 y 4 en ratones, siguiendo una administración oral a 100 mg/kg (con ABT), b) el perfil de tiempo frente al perfil de concentración de los compuestos 3 y 4 en ratas, siguiendo una administración oral a 30 mg/kg, c) el perfil de tiempo frente al perfil de concentración de los compuestos 3 y 17 en ratas, siguiendo una administración por bolo intravenoso a 0,5 y 2 mg/kg, respectivamente.

40 La figura 4 ilustra a) el perfil de tiempo frente al perfil de concentración del compuesto 3 en ratones, siguiendo una administración oral múltiple a 30 y 100 mg/kg en ratones crónicamente infectados (con ABT), b) el perfil de tiempo frente al perfil de concentración del compuesto 4 en ratones que siguen múltiples administraciones orales a 30 y 100 mg/kg en ratones crónicamente afectados (con ABT), c) Farmacocinética del ELF (ELF PK) del compuesto 3 en ratones sanos a 100 mg/kg, d) Farmacocinética del ELF (ELF PK) del compuesto 4 en ratones sanos a 100 mg/kg.

45 La figura 5 ilustra a) el perfil de tiempo frente al perfil de concentración de compuestos 1,4-azaindol que siguen una administración múltiple oral a 100 mg/kg en ratas crónicamente afectadas con Mtb (*Mycobacterium Tuberculosis*), b) resumen de la eficacia de los compuestos 1,4-azaindol en un modelo de infección de TB crónica en ratas Wistar siguiendo una posología de 6 días a la semana durante cuatro semanas. La reducción de log₁₀ de UFC neta/lóbulo izquierdo de los pulmones se obtuvo restando los recuentos de bacterias del pulmón de los controles tratados con vehículo. Todos los compuestos presentaron un efecto significativo estadísticamente frente a los controles sin tratar (*p<0,05).

La Figura 6 ilustra el Esquema Sintético 1 para la síntesis de los Intermedios 3-9.

La Figura 7 ilustra el Esquema Sintético 2 para la síntesis de los Intermedios 11-15.

55 La Figura 8 ilustra el Esquema Sintético 3 para la síntesis de los Intermedios 17-21.

La Figura 9 ilustra el Esquema Sintético 4 para la síntesis de los Intermedios 23-25.

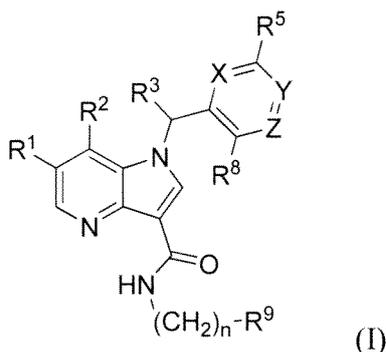
La Figura 10 ilustra el Esquema Sintético 5 para la síntesis de los Intermedios 27-30.

- La Figura 11 ilustra el Esquema Sintético 6 para la síntesis de los Intermedios 32-33.
 La Figura 12 ilustra el Esquema Sintético 7 para la síntesis de los Intermedios 35-37.
 La Figura 13 ilustra el Esquema Sintético 8 para la síntesis de los Intermedios 39-44.
 La Figura 14 ilustra el Esquema Sintético 9 para la síntesis de los Intermedios 41-47.
 5 La Figura 15 ilustra el Esquema Sintético 10 para la síntesis de los Intermedios 48a y 48b-50.
 La Figura 16 ilustra la síntesis de compuestos en (a)-(d), Ejemplos 1-4.
 La Figura 17 ilustra la síntesis de compuestos en (a)-(d), Ejemplos 5-8.
 La Figura 18 ilustra la síntesis de compuestos en (a)-(d), Ejemplos 9-12.
 La Figura 19 ilustra la síntesis de compuestos en (a)-(d), Ejemplos 13-16.
 10 La Figura 20 ilustra la síntesis de compuestos en (a)-(d), Ejemplos 17-20.
 La Figura 21 ilustra la síntesis de compuestos en (a)-(d), Ejemplos 21-24.
 Figure 22 ilustra la síntesis de compuestos en el Ejemplo 25.
 La Figura 23 ilustra la síntesis de compuestos en (a)-(d), Ejemplos 26-29.
 La Figura 24 ilustra la síntesis de compuestos en (a)-(c), Ejemplos 30-32.
 15 La figura 25 ilustra la tabla 2, Especificidad de los patógenos.
 La figura 26 muestra la tabla 3, Actividad frente a la Mtb sensible a los fármacos y a la Mtb resistente a los fármacos.

Descripción detallada de la invención

Compuestos

- 20 En algunos aspectos, la invención proporciona compuestos de Fórmula (I), en la que
 En algunos aspectos, la invención proporciona, al menos en parte, un compuesto de fórmula (I):



en la que

- 25 R¹ se selecciona entre hidrógeno, flúor, bromo, -OCH₃ y metilo;
 R² es hidrógeno o metilo;
 R³ es hidrógeno o metilo;
 X es N o CR⁴;
 R⁴ se selecciona entre hidrógeno, flúor y -OCH₃;
 30 R⁵ se selecciona entre hidrógeno, flúor, -CF₃ y -CN;
 Y es N o CR⁶;
 R⁶ es hidrógeno o metilo;
 Z es N o CR⁷;
 R⁷ se selecciona entre hidrógeno, flúor, -OCH₃, -OCHF₂, -OCH₂CF₃ y -N(CH₃)₂;
 R⁸ se selecciona entre hidrógeno, flúor, metilo y -OCH₃;
 35 n es 1 o 2;
 R⁹ se selecciona entre flúor, ciclopropilo, -OCH₃, -OH, -OCF₃, CHF₂, -CH(F)CH₃ y -CH(OH)CH₃, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En algunos aspectos, R¹ y R² son cada uno hidrógeno.

En algunos aspectos, R¹ es hidrógeno y R² es metilo.

- 40 En algunos aspectos, R¹ se selecciona entre flúor, bromo y metilo y R² es hidrógeno.

En algunos aspectos, R¹, R² y R³ son cada uno hidrógeno.

En algunos aspectos, R¹ es metilo y R² y R³ son cada uno hidrógeno.

En algunos aspectos, n es 1 y R⁹ es ciclopropilo.

- En algunos aspectos, n es 1 y R⁹ es -CH(F)CH₃.
- En algunos aspectos, n es 1 y R⁹ es -CHF₂.
- En algunos aspectos, n es 1 y R⁹ es -CH(OH)CH₃.
- En algunos aspectos, n es 2 y R⁹ es flúor.
- 5 En algunos aspectos, n es 2 y R⁹ es -OMe.
- En algunos aspectos, n es 2 y R⁹ es -OH.
- En algunos aspectos, n es 2 y R⁹ es -OCF₃.
- En algunos aspectos, X es N, R⁵ es hidrógeno, Y es N, Z es CR⁷, R⁷ es -OMe y R⁸ es metilo.
- 10 En algunos aspectos, X es CR⁴, R⁴ es hidrógeno, R⁵ se selecciona entre flúor, -CN y -CF₃, Y es CR⁶, R⁶ es hidrógeno, Z es N y R⁸ es -OMe.
- En algunos aspectos, R¹ es hidrógeno, R² es hidrógeno, R³ es hidrógeno, X es N, R⁵ es hidrógeno, Y es N, Z es CR⁷, R⁷ es -OMe y R⁸ es metilo.
- En algunos aspectos, R¹ es metilo, R² es hidrógeno, R³ es hidrógeno, X es N, R⁵ es hidrógeno, Y es N, Z es CR⁷, R⁷ es -OMe y R⁸ es metilo.
- 15 En algunos aspectos, R¹ es flúor, R² es hidrógeno, R³ es hidrógeno, X es N, R⁵ es hidrógeno, Y es N, Z es CR⁷, R⁷ es -OMe y R⁸ es metilo.
- En algunos aspectos, R¹ es bromo, R² es hidrógeno, R³ es hidrógeno, X es N, R⁵ es hidrógeno, Y es N, Z es CR⁷, R⁷ es -OMe y R⁸ es metilo.
- 20 En algunos aspectos, R¹ es hidrógeno, R² es hidrógeno, R³ es metilo, X es CR⁴, R⁴ es flúor, R⁵ es hidrógeno, Y es CR⁶, R⁶ es hidrógeno, Z es CR⁷, R⁷ es hidrógeno, R⁸ es flúor, n es 2 y R⁹ es flúor.
- En algunos aspectos, R¹ es hidrógeno, R² es metilo, R³ es hidrógeno, X es CR⁴, R⁴ es -OMe, R⁵ es hidrógeno, Y es CR⁶, R⁶ es hidrógeno, Z es CR⁷, R⁷ es flúor, R⁸ es hidrógeno, n es 1 y R⁹ es ciclopropilo.
- En algunos aspectos, R¹ es hidrógeno, R² es hidrógeno, R³ es hidrógeno, X es N, R⁵ es hidrógeno, Y es N, Z es CR⁷, R⁷ es -OMe, R⁸ es metilo, n es 2 y R⁹ es flúor.
- 25 En algunos aspectos, R¹ es hidrógeno, R² es hidrógeno, R³ es hidrógeno, X es N, R⁵ es hidrógeno, Y es N, Z es CR⁷, R⁷ es -OMe, R⁸ es metilo, n es 1 y R⁹ es ciclopropilo.
- En algunos aspectos, R¹ es hidrógeno, R² es hidrógeno, R³ es hidrógeno, X es CR⁴, R⁴ es -OMe, R⁵ es hidrógeno, Y es CR⁶, R⁶ es hidrógeno, Z es CR⁷, R⁷ es flúor, R⁸ es flúor, n es 2 y R⁹ es flúor.
- 30 En algunos aspectos, R¹ es hidrógeno, R² es hidrógeno, R³ es hidrógeno, X es CR⁴, R⁴ es hidrógeno, R⁵ es hidrógeno, Y es CR⁶, R⁶ es hidrógeno, Z es N, R⁸ es -OMe, n es 2 y R⁹ es -OMe.
- En algunos aspectos, R¹ es hidrógeno, R² es hidrógeno, R³ es hidrógeno, X es N, R⁵ es hidrógeno, Y es N, Z es CR⁷, R⁷ es -OMe, R⁸ es metilo, n es 2 y R⁹ es -OMe.
- En algunos aspectos, R¹ es metilo, R² es hidrógeno, R³ es hidrógeno, X es N, R⁵ es hidrógeno, Y es N, Z es CR⁷, R⁷ es -OMe, R⁸ es metilo, n es 2 y R⁹ es flúor.
- 35 En algunos aspectos, R¹ es hidrógeno, R² es hidrógeno, R³ es hidrógeno, X es N, R⁵ es hidrógeno, Y es N, Z es CR⁷, R⁷ es -OMe, R⁸ es metilo, n es 2 y R⁹ es -OH.
- En algunos aspectos, R¹ es metilo, R² es hidrógeno, R³ es hidrógeno, X es N, R⁵ es hidrógeno, Y es N, Z es CR⁷, R⁷ es -OMe, R⁸ es metilo, n es 1 y R⁹ es ciclopropilo.
- 40 En algunos aspectos, R¹ es metilo, R² es hidrógeno, R³ es hidrógeno, X es N, R⁵ es hidrógeno, Y es N, Z es CR⁷, R⁷ es -OMe, R⁸ es metilo, n es 2 y R⁹ es -OMe.
- En algunos aspectos, R¹ es hidrógeno, R² es hidrógeno, R³ es hidrógeno, X es N, R⁵ es hidrógeno, Y es CR⁶, R⁶ es hidrógeno, Z es CR⁷ y R⁷ es -OCH₂CF₃, R⁸ es metilo, n es 2 y R⁹ es flúor.
- En algunos aspectos, R¹ es hidrógeno, R² es hidrógeno, R³ es hidrógeno, X es CR⁴, R⁴ es hidrógeno, R⁵ es -CF₃, Y es CR⁶, R⁶ es hidrógeno, Z es N, R⁸ es -OMe, n es 2 y R⁹ es flúor.
- 45 En algunos aspectos, R¹ es hidrógeno, R² es hidrógeno, R³ es hidrógeno, X es CR⁴, R⁴ es hidrógeno, R⁵ es -CN, Y

- es CR⁶, R⁶ es hidrógeno, Z es N, R⁸ es -OMe, n es 2 y R⁹ es flúor.
- En algunos aspectos, R¹ es metilo, R² es hidrógeno, R³ es hidrógeno, X es CR⁴, R⁴ es hidrógeno, R⁵ es flúor, Y es CR⁶, R⁶ es hidrógeno, Z es N, R⁸ es -OMe, n es 2 y R⁹ es flúor.
- 5 En algunos aspectos, R¹ es metilo, R² es hidrógeno, R³ es hidrógeno, X es N, R⁵ es hidrógeno, Y es N, Z es CR⁷, R⁷ es -OMe, R⁸ es metilo, n es 1 y R⁹ es CH(F)CH₃.
- En algunos aspectos, R¹ es metilo, R² es hidrógeno, R³ es hidrógeno, X es N, R⁵ es hidrógeno, Y es N, Z es CR⁷, R⁷ es -OMe, R⁸ es metilo, n es 2 y R⁹ es -OH.
- En algunos aspectos, R¹ es hidrógeno, R² es hidrógeno, R³ es hidrógeno, X es CR⁴, R⁴ es hidrógeno, R⁵ es -flúor, Y es CR⁶, R⁶ es metilo, Z es N, R⁸ es -OMe, n es 2 y R⁹ es flúor.
- 10 En algunos aspectos, R¹ es flúor, R² es hidrógeno, R³ es hidrógeno, X es N, R⁵ es hidrógeno, Y es N, Z es CR⁷, R⁷ es -OMe, R⁸ es metilo, n es 2 y R⁹ es flúor.
- En algunos aspectos, R¹ es bromo, R² es hidrógeno, R³ es hidrógeno, X es N, R⁵ es hidrógeno, Y es N, Z es CR⁷, R⁷ es -OMe, R⁸ es metilo, n es 2 y R⁹ es flúor.
- 15 En algunos aspectos, R¹ es metilo, R² es hidrógeno, R³ es hidrógeno, X es N, R⁵ es hidrógeno, Y es CR⁶, R⁶ es hidrógeno, Z es CR⁷, R⁷ es -OCH₂CF₃, R⁸ es metilo, n es 2 y R⁹ es flúor.
- En algunos aspectos, R¹ es metilo, R² es hidrógeno, R³ es hidrógeno, X es CR⁴, R⁴ es hidrógeno, R⁵ es -CF₃, Y es CR⁶, R⁶ es hidrógeno, Z es N, R⁸ es -OMe, n es 1 y R⁹ es CH(F)CH₃.
- En algunos aspectos, R¹ es hidrógeno, R² es hidrógeno, R³ es hidrógeno, X es N, R⁵ es hidrógeno, Y es N, Z es CR⁷, R⁷ es -OMe, R⁸ es metilo, n es 2 y R⁹ es -OCF₃.
- 20 En algunos aspectos, R¹ es metilo, R² es hidrógeno, R³ es hidrógeno, X es CR⁴, R⁴ es hidrógeno, R⁵ es flúor, Y es CR⁶, R⁶ es hidrógeno, Z es N, R⁸ es -OMe, n es 1 y R⁹ es -CH(F)CH₃.
- En algunos aspectos, R¹ es hidrógeno, R² es hidrógeno, R³ es hidrógeno, X es N, R⁵ es hidrógeno, Y es N, Z es CR⁷, R⁷ es -OMe, R⁸ es metilo, n es 1 y R⁹ es ciclopropilo.
- 25 En algunos aspectos, R¹ es metilo, R² es hidrógeno, R³ es hidrógeno, X es CR⁴, R⁴ es hidrógeno, R⁵ es flúor, Y es CR⁶, R⁶ es metilo, Z es N, R⁸ es metilo, n es 2 y R⁹ es flúor.
- En algunos aspectos, R¹ es metilo, R² es hidrógeno, R³ es hidrógeno, X es N, R⁵ es hidrógeno, Y es CR⁶, R⁶ es hidrógeno, Z es CR⁷, R⁷ es -OCH₂CF₃, R⁸ es metilo, n es 2 y R⁹ es -OH.
- En algunos aspectos, R¹ es metilo, R² es hidrógeno, R³ es hidrógeno, X es N, R⁵ es hidrógeno, Y es N, Z es CR⁷, R⁷ es -OMe, R⁸ es metilo, n es 1 y R⁹ es -CH(OH)CH₃.
- 30 En algunos aspectos, R¹ es metilo, R² es hidrógeno, R³ es hidrógeno, X es N, R⁵ es hidrógeno, Y es N, Z es CR⁷, R⁷ es -N(CH₃)₂, R⁸ es metilo, n es 2 y R⁹ es flúor.
- En algunos aspectos, R¹ es metilo, R² es hidrógeno, R³ es hidrógeno, X es N, R⁵ es hidrógeno, Y es N, Z es CR⁷, R⁷ es -OMe, R⁸ es metilo, n es 1 y R⁹ es CHF₂.
- 35 En algunos aspectos, R¹ es hidrógeno, R² es hidrógeno, R³ es hidrógeno, X es CR⁴, R⁴ es hidrógeno, R⁵ es hidrógeno, Y es CR⁶, R⁶ es metilo, Z es CR⁷, R⁷ es hidrógeno, R⁸ es metilo, n es 2 y R⁹ es flúor.
- En algunos aspectos, R¹ es hidrógeno, R² es hidrógeno, R³ es hidrógeno, X es CR⁴, R⁴ es flúor, R⁵ es hidrógeno, Y es CR⁶, R⁶ es hidrógeno, Z es CR⁷, R⁷ es hidrógeno, R⁸ es -OMe, n es 1 y R⁹ es ciclopropilo.
- En algunos aspectos, R¹ es metilo, R² es hidrógeno, R³ es hidrógeno, X es N, R⁵ es hidrógeno, Y es N, Z es CR⁷, R⁷ es -OCH₃, R⁸ es metilo, n es 1 y R⁹ es -CHF₂.
- 40 En algunos aspectos, R¹ es metilo, R² es hidrógeno, R³ es hidrógeno, X es N, R⁵ es hidrógeno, Y es N, Z es CR⁷, R⁷ es -N(CH₃)₂, R⁸ es metilo, n es 2 y R⁹ es -OH.
- En algunos aspectos, R¹ es metilo, R² es hidrógeno, R³ es hidrógeno, X es N, R⁵ es hidrógeno, Y es N, Z es CR⁷, R⁷ es -OCHF₂, R⁸ es metilo, n es 2 y R⁹ es -OH.
- 45 En algunos aspectos, R¹ es -OCH₃, R² es hidrógeno, R³ es hidrógeno, X es N, R⁵ es hidrógeno, Y es N, Z es CR⁷, R⁷ es -OCH₃, R⁸ es metilo, n es 2 y R⁹ es -OH.
- En algunos aspectos, R¹ es -OCH₃, R² es hidrógeno, R³ es hidrógeno, X es N, R⁵ es hidrógeno, Y es N, Z es CR⁷, R⁷ es -OCH₃, R⁸ es metilo, n es 1 y R⁹ es -CHF₂.

En algunos aspectos, R¹ es -OCH₃, R² es hidrógeno, R³ es hidrógeno, X es N, R⁵ es hidrógeno, Y es N, Z es CR⁷, R⁷ es -OCH₃, R⁸ es metilo, n es 2 y R⁹ es -OH. En algunos aspectos, R¹ es -OCH₃, R² es hidrógeno, R³ es hidrógeno, X es N, R⁵ es hidrógeno, Y es N, Z es CR⁷, R⁷ es -N(CH₃)₂, R⁸ es metilo, n es 2 y R⁹ es F.

5 En algunos aspectos, R¹ es -OCH₃, R² es hidrógeno, R³ es hidrógeno, X es N, R⁵ es hidrógeno, Y es N, Z es CR⁷, R⁷ es -N(CH₃)₂, R⁸ es metilo, n es 1 y R⁹ es -CHF₂.

En algunos aspectos, R¹ es -OCH₃, R² es hidrógeno, R³ es hidrógeno, X es N, R⁵ es hidrógeno, Y es N, Z es CR⁷, R⁷ es -N(CH₃)₂, R⁸ es metilo, n es 2 y R⁹ es -OH.

En algunos aspectos, R¹ es -OCH₃, R² es hidrógeno, R³ es hidrógeno, X es N, R⁵ es hidrógeno, Y es N, Z es CR⁷, R⁷ es -OCHF₂, R⁸ es metilo, n es 2 y R⁹ es F.

10 En algunos aspectos, R¹ es -OCH₃, R² es hidrógeno, R³ es hidrógeno, X es N, R⁵ es hidrógeno, Y es N, Z es CR⁷, R⁷ es -OCHF₂, R⁸ es metilo, n es 1 y R⁹ es -CHF₂.

En algunos aspectos, R¹ es -OCH₃, R² es hidrógeno, R³ es hidrógeno, X es N, R⁵ es hidrógeno, Y es N, Z es CR⁷, R⁷ es -OCHF₂, R⁸ es metilo, n es 2 y R⁹ es -OH.

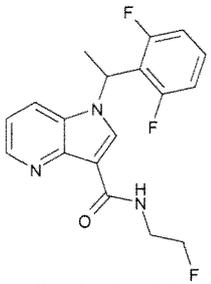
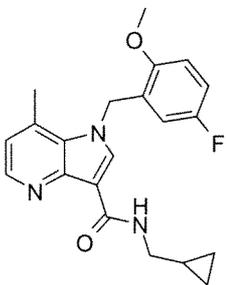
15 En algunos aspectos, R¹ es -OCH₃, R² es hidrógeno, R³ es hidrógeno, X es N, R³ es hidrógeno, Y es N, Z es CR⁷, R⁷ es -OCHF₂, R⁸ es metilo, n es 2 y R⁹ es F.

En algunos aspectos, R¹ es metilo, R² es hidrógeno, R³ es hidrógeno, X es N, R⁵ es hidrógeno, Y es CR⁶, R⁶ es metilo, Z es N, R⁸ es metilo, n es 2 y R⁹ es F.

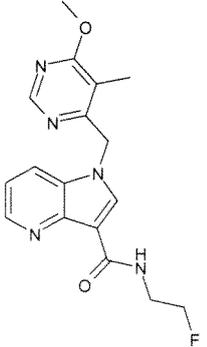
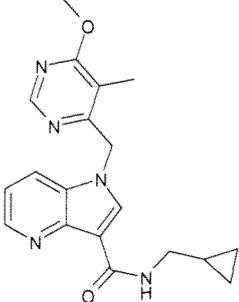
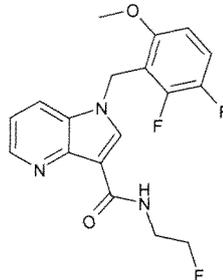
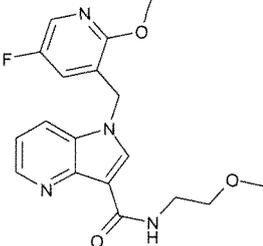
En algunos aspectos, R¹ es metilo, R² es hidrógeno, R³ es hidrógeno, X es N, R⁵ es hidrógeno, Y es CR⁶, R⁶ es metilo, Z es N, R⁸ es metilo, n es 1 y R⁹ es CHF₂.

20 En algunos aspectos, los compuestos de fórmula (I) incluyen los compuestos en la Tabla 1, o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

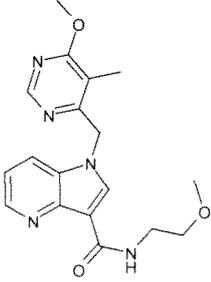
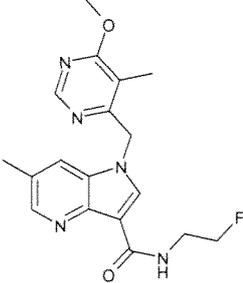
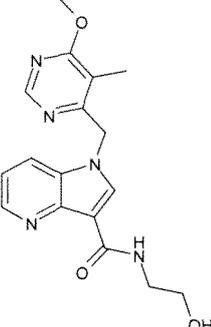
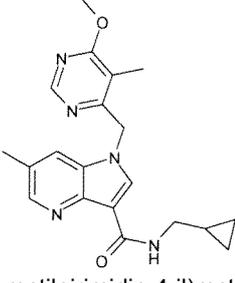
Tabla 1

N.º de Compuesto	Compuesto	CIM de Mtb (µM)
1	 <p>1-(1-(2,6-difluorofenil)etil)-N-(2-fluoroetil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida</p>	12,5
2	 <p>N-(Ciclopropilmetil)-1-(5-fluoro-2-metoxibencil)-7-metil-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida</p>	6,25

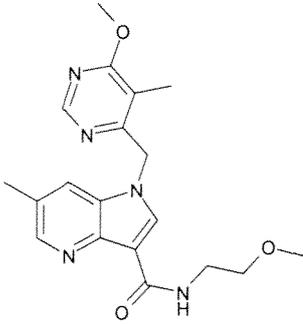
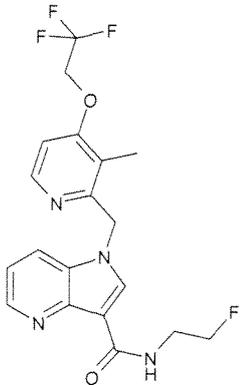
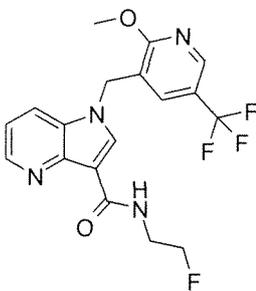
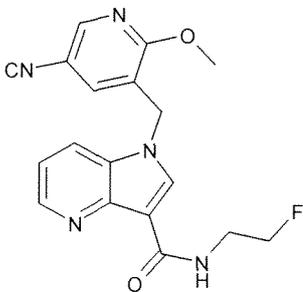
(continuación)

N.º de Compuesto	Compuesto	CIM de Mtb (µM)
3	 <p data-bbox="363 716 1327 779">N-(2-fluoroetil)-1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida</p>	1,56
4	 <p data-bbox="363 1097 1327 1169">N-(ciclopropilmetil)-1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida</p>	<0,781
5	 <p data-bbox="363 1456 1327 1496">1-(2,3-difluoro-6-metoxibencil)-N-(2-fluoroetil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida</p>	<0,66
6	 <p data-bbox="363 1758 1327 1818">1-((5-fluoro-2-metoxipiridin-3-il)metil)-N-(2-metoxietil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida</p>	1,3

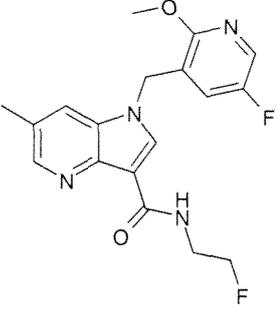
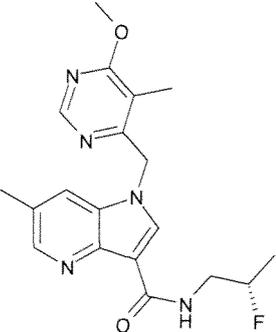
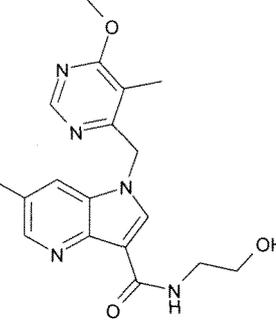
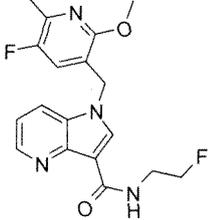
(continuación)

N.º de Compuesto	Compuesto	CIM de Mtb (µM)
7	 <p data-bbox="363 658 1327 719">1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-N-(2-metoxietil)-1H-pirrol[3,2-b]piridin-3-carboxamida</p>	<1,33
8	 <p data-bbox="363 1028 1327 1088">N-(2-fluoroetil)-1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-6-metil-1H-pirrol[3,2-b]piridin-3-carboxamida</p>	<0,53
9	 <p data-bbox="363 1442 1327 1503">N-(2-hidroxietil)-1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-1H-pirrol[3,2-b]piridin-3-carboxamida</p>	13,9
10	 <p data-bbox="363 1812 1327 1845">N-(ciclopropilmetil)-1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-6-metil-1H-pirrol[3,2-b]piridin-3-carboxamida</p>	1,56

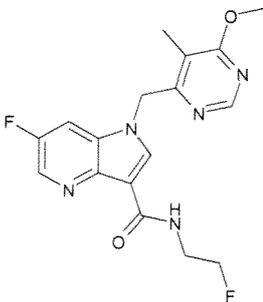
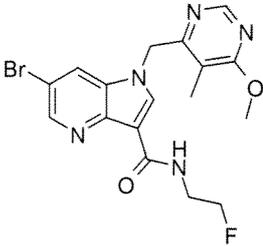
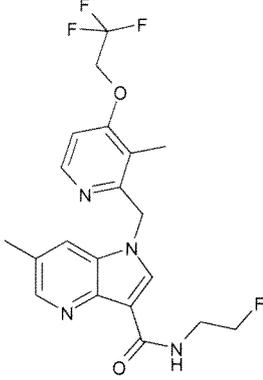
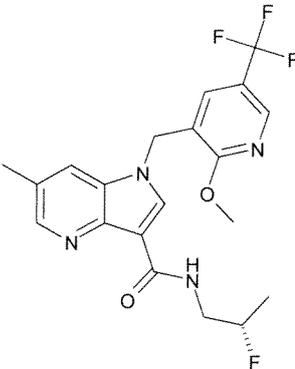
(continuación)

N.º de Compuesto	Compuesto	CIM de Mtb (µM)
11	 <p data-bbox="363 685 1326 741">1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-N-(2-metoxietil)-6-metil-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida</p>	0,781
12	 <p data-bbox="363 1137 1326 1205">N-(2-fluoroetil)-1-((3-metil-4-(2,2,2-trifluoroetoxi)piridin-2-il)metil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida</p>	6,25
13	 <p data-bbox="363 1507 1326 1565">N-(2-fluoroetil)-1-((2-metoxi-5-(trifluorometil)piridin-3-il)metil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida</p>	<0,53
14	 <p data-bbox="363 1868 1326 1924">1-((5-ciano-2-metoxipiridin-3-il)metil)-N-(2-fluoroetil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida</p>	3,12

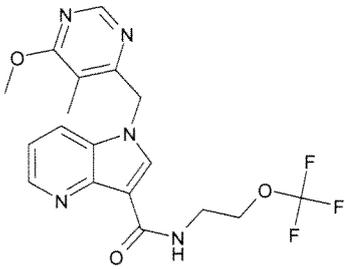
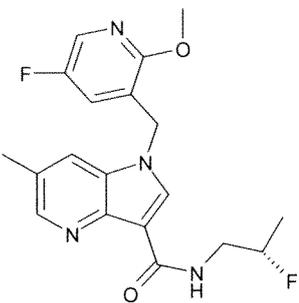
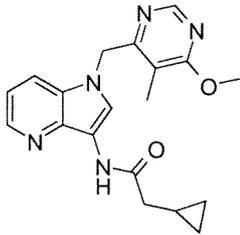
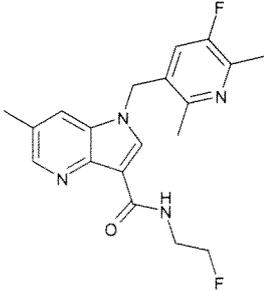
(continuación)

N.º de Compuesto	Compuesto	CIM de Mtb (µM)
15	 <p>1-((5-fluoro-2-metoxipiridin-3-il)metil)-N-(2-fluoroetil)-6-metil-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida</p>	1,56
16	 <p>(S)-N-(2-fluoropropil)-1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-6-metil-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida</p>	0,156
17	 <p>N-(2-hidroxietil)-1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-6-metil-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida</p>	1,56
18	 <p>1-((5-fluoro-2-metoxi-6-metilpiridin-3-il)metil)-N-(2-fluoroetil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida</p>	0,781

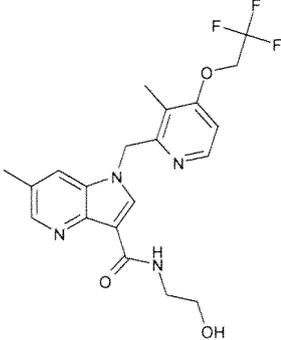
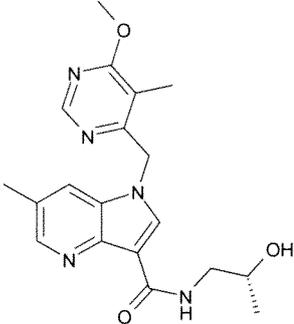
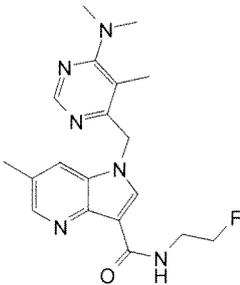
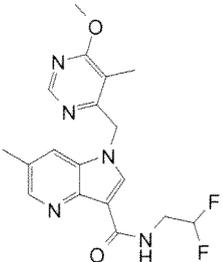
(continuación)

N.º de Compuesto	Compuesto	CIM de Mtb (µM)
19	 <p data-bbox="363 667 1326 725">6-fluoro-N-(2-fluoroetil)-1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-1H-pirrol[3,2-b]piridin-3-carboxamida</p>	6,25
20	 <p data-bbox="363 992 1326 1048">6-bromo-N-(2-fluoroetil)-1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-1H-pirrol[3,2-b]piridin-3-carboxamida</p>	0,781
21	 <p data-bbox="363 1451 1326 1503">N-(2-fluoroetil)-6-metil-1-((3-metil-4-(2,2,2-trifluoroetoxi)piridin-2-il)metil)-1H-pirrol[3,2-b]piridin-3-carboxamida</p>	1,56
22	 <p data-bbox="363 1888 1326 1939">(5)-N-(2-fluoropropil)-1-((2-metoxi-5-(trifluorometil)piridin-3-il)metil)-6-metil-1H-pirrol[3,2-b]piridin-3-carboxamida</p>	<0,391

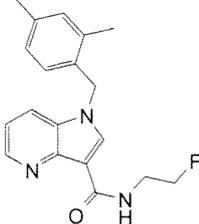
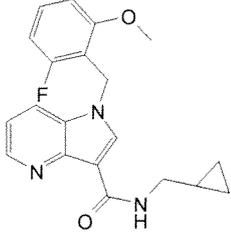
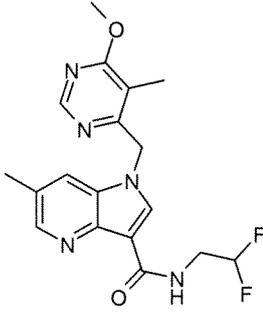
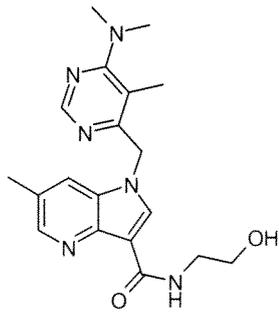
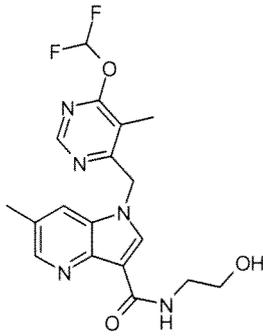
(continuación)

N.º de Compuesto	Compuesto	CIM de Mtb (µM)
23	 <p>1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-N-(2-(trifluorometoxi)etil)-1H-pirrol[3,2-b]piridin-3-carboxamida</p>	3,12
24	 <p>(S)-1-((5-fluoro-2-metoxipiridin-3-il)metil)-N-(2-fluoropropil)-6-metil-1H-pirrol[3,2-b]piridin-3-carboxamida</p>	<0,391
25	 <p>2-ciclopropil-N-(1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-1H-pirrol[3,2-b]piridin-3-il)acetamida</p>	25
26	 <p>1-((5-fluoro-2,6-dimetilpiridin-3-il)metil)-N-(2-fluoroetil)-6-metil-1H-pirrol[3,2-b]piridin-3-carboxamida</p>	3,12

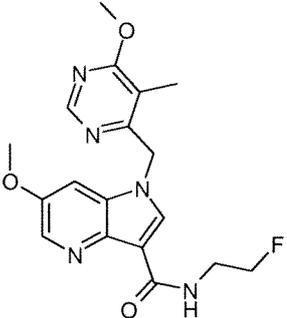
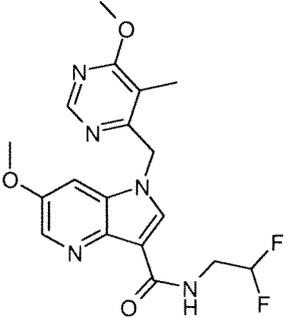
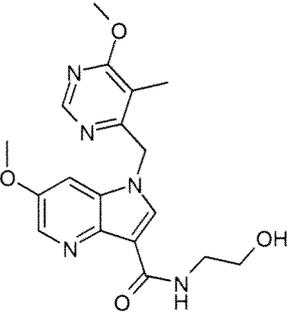
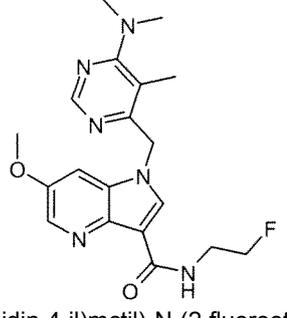
(continuación)

N.º de Compuesto	Compuesto	CIM de Mtb (µM)
27	 <p data-bbox="363 707 1326 768">N-(2-hidroxiethyl)-6-metil-1-((3-metil-4-(2,2,2-trifluoroetoxi)piridin-2-il)metil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida</p>	3,12
28	 <p data-bbox="363 1111 1326 1167">(R)-N-(2-hidroxiopropil)-1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-6-metil-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida</p>	6,25
29	 <p data-bbox="363 1469 1326 1525">1-((6-(dimetilamino)-5-metilpirimidin-4-il)metil)-N-(2-fluoroetil)-6-metil-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida</p>	1,56
30	 <p data-bbox="363 1805 1326 1868">N-(2,2-difluoroetil)-1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-6-metil-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida</p>	<0,391

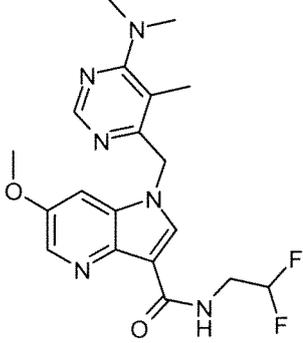
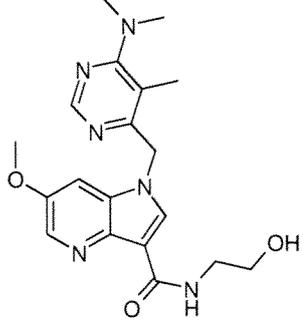
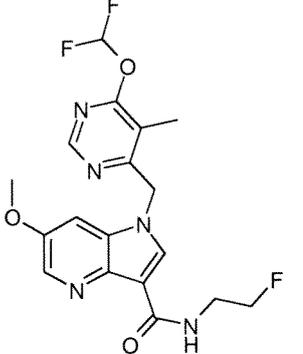
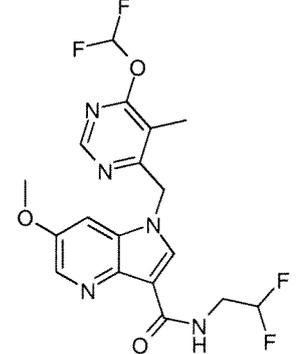
(continuación)

N.º de Compuesto	Compuesto	CIM de Mtb (µM)
31	 <p>1-(2,4-dimetilbencil)-N-(2-fluoroetil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida</p>	1,56
32	 <p>N-(ciclopropilmetil)-1-(2-fluoro-6-metoxibencil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida</p>	1,56
33	 <p>N-(2,2-difluoroetil)-1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-6-metil-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida</p>	<0,39
34	 <p>1-((6-(dimetilamino)-5-metilpirimidin-4-il)metil)-N-(2-hidroxi-etil)-6-metil-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida</p>	<0,39
35	 <p>1-((6-(difluorometoxi)-5-metilpirimidin-4-il)metil)-N-(2-hidroxi-etil)-6-metil-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida</p>	<0,39

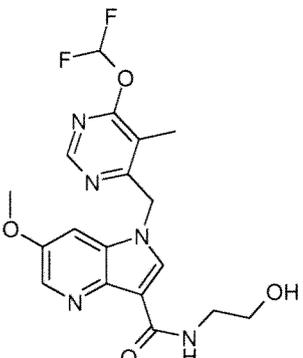
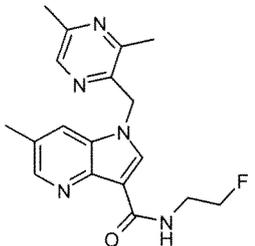
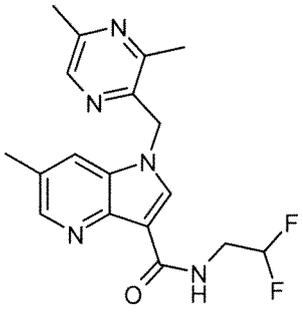
(continuación)

N.º de Compuesto	Compuesto	CIM de Mtb (µM)
36	 <p data-bbox="363 689 1326 748">N-(2-fluoroetil)-6-metoxi-1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida</p>	<0,39
37	 <p data-bbox="363 1088 1326 1140">N-(2,2-difluoroetil)-6-metoxi-1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida</p>	<0,39
38	 <p data-bbox="363 1480 1326 1532">N-(2-hidroxietil)-6-metoxi-1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida</p>	0,78
39	 <p data-bbox="363 1872 1326 1906">1-((6-(dimetilamino)-5-metilpirimidin-4-il)metil)-N-(2-fluoroetil)-6-metoxi-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida</p>	<0,39

(continuación)

N.º de Compuesto	Compuesto	CIM de Mtb (µM)
40	 <p data-bbox="363 712 1326 768">N-(2,2-difluoroetil)-1-((6-(dimetilamino)-5-metilpirimidin-4-il)metil)-6-metoxi-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida</p>	<0,39
41	 <p data-bbox="363 1108 1326 1167">1-((6-(dimetilamino)-5-metilpirimidin-4-il)metil)-N-(2-hidroxi-etil)-6-metoxi-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida</p>	<0,39
42	 <p data-bbox="363 1541 1326 1608">1-((6-(difluorometoxi)-5-metilpirimidin-4-il)metil)-N-(2-fluoroetil)-6-metoxi-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida</p>	<0,39
43	 <p data-bbox="363 1982 1326 2038">N-(2,2-difluoroetil)-1-((6-(difluorometoxi)-5-metilpirimidin-4-il)metil)-6-metoxi-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida</p>	<0,39

(continuación)

N.º de Compuesto	Compuesto	CIM de Mtb (µM)
44	 <p data-bbox="367 728 1316 772">1-((6-(difluorometoxi)-5-metilpirimidin-4-il)metil)-N-(2-hidroxi-etil)-6-metoxi-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida</p>	0,78
45	 <p data-bbox="367 1041 1197 1097">1-((3,5-dimetilpirazin-2-il)metil)-N-(2-fluoro-etil)-6-metil-1-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida</p>	<0,39
46	 <p data-bbox="367 1422 1252 1478">N-(2,2-difluoro-etil)-1-((3,5-dimetilpirazin-2-il)metil)-6-metil-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida</p>	<0,39

Composiciones farmacéuticas

En algunos aspectos, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un diluyente o transportador farmacéuticamente aceptable.

- 5 La expresión "farmacéuticamente aceptable" incluye compuestos, materiales, composiciones y/o formas farmacéuticas que son, dentro del ámbito del buen criterio médico, adecuados para su uso en contacto con los tejidos de humanos y animales sin toxicidad en exceso, irritación, respuestas alérgicas, u otros problemas o complicaciones, y están acorde con una relación beneficio/riesgo razonable.

- 10 Los compuestos de la fórmula (I) pueden formar un ácido o sales de base farmacéuticamente aceptables y estables, y en tales casos, puede ser apropiada la administración de un compuesto como una sal. Entre los ejemplos de sales de ácido para su adición se incluyen el acetato, adipato, ascorbato, benzoato, bencenosulfonato, bicarbonato, bisulfato, butirato, alcanforato, alcanforsulfonato, colina, citrato, ciclohexil sulfamato, dietilenediamina, etanosulfonato, fumarato, glutamato, glucolato, hemisulfato, 2-hidroxi-etilsulfonato, heptanoato, hexanoato, clorhidrato, hidrobromuro, yodhidrato, hidroximaleato, lactato, malato, maleato, metanosulfonato, meglumina, 2-naftalenosulfonato, nitrato, oxalato, pamoato, persulfato, fenilacetato, fosfato, difosfato, picrato, pivalato, propionato, quinato, salicilato, estearato, succinato, sulfamato, sulfanilato, sulfato, tartrato, tosilato (p-toluensulfonato), trifluoroacetato, y undecanoato. Entre los ejemplos de sales de base se incluyen sales de amonio; sales alcalinometálicas tales como sodio, sales de litio y potasio; sales alcalinoterreas, tales como aluminio, sales de calcio

- 5 y magnesio; sales con bases orgánicas, tales como sales de diciclohexilamina y N-metil-D-glucamina; y sales con aminoácidos tales como arginina, lisina, ornitina, y demás. Asimismo, los grupos básicos que contienen nitrógeno pueden cuaternizarse con tales agentes como: haluros de alquilo inferior, tal como haluros de metilo, etilo, propilo y butilo; sulfatos de diaquilo tales como sulfatos de dimetilo, dietilo, dibutilo; sulfatos de diamilo; haluros de cadena
- 10 larga tales como haluros de decilo, laurilo, miristilo y estearilo; haluros de arilalquilo tales como bromuro de bencilo y otros. Se prefieren las sales fisiológicamente aceptables no tóxicas, a pesar de que pueden ser útiles otras sales, tal como para aislar o purificar el producto.
- Las sales pueden formarse mediante medios convencionales, tales como por reacción de la forma de la base libre del producto con uno o más equivalentes del ácido apropiado en un disolvente o medio en el que la sal es insoluble,
- 15 o en un disolvente tal como agua, que se retira al vacío o mediante liofilización o mediante el intercambio de aniones de una sal existente por otro anión sobre una resina de intercambio iónico adecuada.
- Las composiciones de la invención pueden estar en una forma adecuada para su uso oral (por ejemplo, comprimidos, pastillas para chupar, tales como cápsulas duras o blandas, suspensiones acuosas u oleosas, emulsiones, polvos o gránulos dispersables, jarabes o elixires), para uso tópico (por ejemplo, cremas, pomadas, geles, o soluciones acuosas u oleosas o suspensiones), para su administración por vía inhalada (por ejemplo, como un polvo muy fino o un aerosol líquido), para su administración mediante insuflación (por ejemplo, como un polvo muy fino) o para su administración por vía parenteral (por ejemplo, como una solución acuosa u oleosa estéril para su dosificación intravenosa, subcutánea, intramuscular o como un supositorio para su dosificación rectal).
- 20 Las composiciones de la invención pueden obtenerse mediante procedimientos convencionales que utilicen excipientes farmacéuticos convencionales muy conocidos en la técnica. Por lo tanto, las composiciones destinadas para su uso oral pueden contener, por ejemplo, uno o más agentes colorantes, edulcorantes, saporíferos y/o conservantes.
- Los excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados para una formulación de comprimidos incluyen, por ejemplo, diluyentes inertes tales como lactosa, carbonato de sodio, fosfato cálcico o carbonato cálcico; agentes de
- 25 granulación y desintegración, tales como almidón de maíz o ácido algínico; aglutinantes, tales como el almidón; lubricantes, tales como el estearato de magnesio, ácido esteárico o talco; agentes conservantes, tales como etil o propil p-hidroxibenzoato; y antioxidantes, tales como ácido ascórbico. Las formulaciones de los comprimidos pueden estar sin recubrir o recubiertas para modificar su desintegración y la absorción posterior del principio activo en el tubo digestivo, o para mejorar su estabilidad y/o aspecto, en cualquier caso, utilizando agentes de recubrimiento
- 30 convencionales y procedimientos muy conocidos en la técnica.
- Las composiciones para el uso oral pueden estar en la forma de cápsulas de gelatina dura en las que el principio activo está mezclado con un diluyente sólido inerte, por ejemplo, carbonato cálcico, fosfato cálcico o caolina, o en forma de cápsulas de gelatina blanda en las que el principio activo está mezclado con agua o con un aceite, tal como aceite de cacahuete, parafina líquida o aceite de oliva.
- 35 Las suspensiones acuosas contienen en general el principio activo en forma de polvo muy fino, o de partículas nano o micronizadas junto con uno o más agentes de suspensión, tales como carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, alginato sódico, polivinil-pirrolidona, goma tragacanto y goma acacia; agentes de dispersión o humectantes, tales como lecitina o productos de condensación de un óxido de alquileo con ácidos grasos (por ejemplo, estearato polioxietileno), o productos de condensación de óxido de etileno con alcoholes
- 40 alifáticos de cadena larga, por ejemplo, heptadecaetilenoicetanol, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales obtenidos de ácidos grasos y un hexitol, tal como monooleato de polioxietileno sorbitol, o productos de condensación de óxido de etileno con alcoholes alifáticos de cadena larga, por ejemplo, heptadecaetilenoicetanol, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales obtenidos de ácidos grasos y un hexitol, tal como monooleato de polioxietileno sorbitol, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales obtenidos de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, por ejemplo, monooleato de polietileno sorbitano. Las suspensiones acuosas pueden contener también uno o más conservantes, tales como etil o propil p-hidroxibenzoato; antioxidantes, tales como ácido ascórbico); agentes colorantes; agentes saborizante; y/o edulcorantes tales como sacarosa, sacarina o aspartamo.
- 45 Las suspensiones oleosas pueden formularse suspendiendo el principio activo en un aceite vegetal, tal como aceite de arachis, aceite de oliva, aceite de sésamo o aceite de coco, o en un aceite mineral tal como parafina líquida. Las suspensiones oleosas también pueden contener un espesante tal como cera de abeja, parafina dura o alcohol cetílico. Los agentes edulcorantes, tales como los expuestos anteriormente, y los agentes saporíferos pueden añadirse para proporcionar una preparación oral de sabor agradable. Estas composiciones pueden conservarse con la adición de un antioxidante, tal como ácido ascórbico.
- 50 Los polvos y gránulos dispersables adecuados para la preparación de una suspensión acuosa mediante la adición de agua, generalmente contienen el principio activo junto con un agente dispersante o humectante, agente de suspensión y uno o más conservantes. Los ejemplos de los agentes dispersantes o humectantes y de los agentes de suspensión adecuados son los mencionados anteriormente. Puede haber presentes excipientes adicionales, tales como agentes endulzantes, saporíferos y colorantes.
- 55

Las composiciones farmacéuticas de la invención también pueden estar en forma de emulsiones aceite en agua. La fase oleosa puede ser un aceite vegetal, tal como aceite de oliva o aceite de arachis, o un aceite mineral, tal como, por ejemplo, parafina líquida o una mezcla de cualquiera de los mismos. Los agentes emulsionantes adecuados pueden ser, por ejemplo, gomas producidas naturalmente, tales como goma acacia o coma tragacanto, fosfátidos producidos naturalmente, tales como granos de soja, lecitina, y ésteres o ésteres parciales obtenidos de ácidos grasos y anhídridos de hexitol (por ejemplo, monooleato de sorbitano) y productos de condensación de dichos ésteres parciales con óxido de etileno, tal como monooleato de polioxietilén sorbitano. Las emulsiones también pueden contener agentes edulcorantes y aromatizantes y conservantes.

Los jarabes y elixires se pueden formular con agentes edulcorantes tales como glicerol, propilenglicol, sorbitol, aspartamo o sacarosa, y también pueden contener un agente emoliente, conservante, saporífero y/o colorante.

Las composiciones farmacéuticas pueden también estar en forma de suspensiones acuosas u oleosas estériles inyectables, que pueden formularse según los procedimientos conocidos, utilizando uno o más de los agentes dispersantes o humectantes y agentes de suspensión adecuados, que se han mencionado anteriormente. La preparación estéril inyectable también puede ser una solución estéril inyectable o una suspensión en un diluyente o disolvente no tóxico y aceptable por vía parenteral, por ejemplo, una solución en 1,3-butanodiol.

Las composiciones para la administración por inhalación pueden estar en la forma de un aerosol presurizado convencional adaptado para dispensar el principio activo, como un aerosol que contiene gotitas sólidas o líquidas muy finas. Pueden utilizarse propulsores de aerosol convencionales, tales como hidrocarburos fluorinados volátiles o hidrocarburos, y el dispositivo de aerosol está adaptado de forma conveniente para dispensar una cantidad medida de principio activo.

Para más información sobre formulaciones, el lector ha de dirigirse al capítulo 25.2 del volumen 5 de la obra "Comprehensive Medicinal Chemistry" (Corwin Hansch; Chairman of Editorial Board), Pergamon Press 1990.

La cantidad de principio activo que se combina con uno o más excipientes para producir una única forma farmacéutica variará dependiendo del hospedador tratado y la vía de administración en particular. Para más información sobre vías de administración y posología, el lector ha de dirigirse al capítulo 25.3 del volumen 5 de la obra "Comprehensive Medicinal Chemistry" (Corwin Hansch; Chairman of Editorial Board), Pergamon Press 1990.

Procedimientos de uso

En algunos aspectos, la invención proporciona un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de la tuberculosis o una infección por *Mycobacterium*.

En algunos aspectos, la invención proporciona un compuesto de la fórmula (I) en la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento de la tuberculosis o una infección por *Mycobacterium*.

En algunos aspectos, la divulgación proporciona un procedimiento para el tratamiento de la tuberculosis o una infección por *Mycobacterium*, que comprende la administración a un sujeto que lo necesita de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la fórmula (I) o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" incluye una cantidad de los cocrystalos descrita en el presente documento que suscitará la respuesta biológica o médica de un sujeto, por ejemplo, la reducción o inhibición de la actividad de una enzima o proteína relacionada con una infección por *Mycobacterium* o con la tuberculosis, la mejora de los síntomas de una infección por *Mycobacterium* o de la tuberculosis, o la ralentización o retraso de la progresión de una infección por *Mycobacterium* o de la tuberculosis. En algunas realizaciones, la expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" incluye la cantidad de un cocrystal descrito en el presente documento, que cuando se administra a un sujeto, es eficaz para, al menos parcialmente, aliviar, inhibir y/o aminorar una infección por *Mycobacterium* o la tuberculosis, y/o reducir o inhibir el crecimiento bacteriano, la multiplicación o la carga bacteriana de *Mycobacterium* en un sujeto.

El término "sujeto" incluye mamíferos de sangre caliente, por ejemplo, primates, vacas, oveja, perros, gatos, conejos, ratas, campañoles, focas y ratones. En algunas realizaciones, el sujeto es un primate, por ejemplo, un ser humano. En algunas realizaciones, el sujeto padece una infección por *Mycobacterium* o tuberculosis. En algunas realizaciones, el sujeto necesita tratamiento (por ejemplo, el sujeto se beneficiaría biológica o clínicamente del tratamiento).

El término "inhibir", "inhibición" o "inhibiendo" incluye un descenso en la actividad basal de una actividad o proceso biológico.

El término "tratar", "tratando" y "tratamiento" incluye la reducción o inhibición de la actividad de una enzima o proteína relacionada con una infección por *Mycobacterium* o con la tuberculosis en un sujeto, mejora de uno o más de los síntomas de una infección por *Mycobacterium* o de la tuberculosis en un sujeto, o ralentización o retraso de la progresión de una infección por *Mycobacterium* o de la tuberculosis en un sujeto. El término "tratar", "tratando" y "tratamiento" también incluye la reducción o inhibición del crecimiento, y multiplicación bacteriana, o una reducción o

inhibición de la carga bacteriana de *Mycobacterium* en un sujeto.

La expresión "infección por *Mycobacterium*" incluye las infecciones producidas por una o más de las especies del complejo *Mycobacterium tuberculosis*, por ejemplo, de *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium africanum*, *Mycobacterium canettii*, *Mycobacterium caprae*, *Mycobacterium microti* o *Mycobacterium pinnipedii*. En algunas realizaciones, la infección por *Mycobacterium* es una infección por *Mycobacterium tuberculosis*.

El término "tuberculosis" se refiere a la enfermedad producida por una infección en un sujeto de una o más especies del complejo *Mycobacterium tuberculosis*. El término "tuberculosis" incluye la tuberculosis latente (LTBI), tuberculosis no resistente a fármacos, tuberculosis multirresistente (TBMR) y tuberculosis extensamente resistente (TB-XDR). El término "tuberculosis latente" incluye una infección de un sujeto provocada por una o más especies del complejo *Mycobacterium tuberculosis* pero en el que el sujeto no presenta necesariamente los síntomas de la enfermedad de la tuberculosis. El término "tuberculosis no resistente a fármacos" incluye la tuberculosis producida por una infección por una o más especies del complejo *Mycobacterium tuberculosis* que presenta una resistencia no antibacteriana a la terapia habitual contra la tuberculosis. El término "tuberculosis multirresistente (TBMR)" incluye la tuberculosis producida por una infección por una o más especies del complejo *Mycobacterium tuberculosis* que es resistente a la rifampicina y a la isoniacida. El término "tuberculosis extensamente resistente (TB-XDR)" incluye la tuberculosis producida por una infección por una o más especies del complejo *Mycobacterium tuberculosis* que es resistente a la rifampicina e isoniacida, así como a cualquier miembro de la familia de las quinolonas, y también es resistente a al menos uno de kanamicina, capreomicina y amikacina. En algunas realizaciones, la infección de la tuberculosis es grave. En algunas realizaciones, la infección de la tuberculosis es crónica.

En algunos aspectos, la invención proporciona un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para inhibir el DprE1.

En algunos aspectos, la invención proporciona un compuesto de la fórmula (I) en la fabricación de un medicamento para su uso en la inhibición del DprE1.

En algunos aspectos, la divulgación proporciona un procedimiento para inhibir el DprE1 que comprende el contacto de una célula con una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Combinaciones

Los compuestos descritos en el presente documento pueden aplicarse como terapia única o pueden suponer el uso de una o más sustancias y/o tratamientos distintos. Tal tratamiento conjunto puede conseguirse a modo de administración simultánea, consecutiva o separada de los componentes individuales del tratamiento. Cuando la administración es consecutiva o separada, el retraso en la administración del segundo componente no debería ser demasiado, pues se pierde el efecto beneficioso de la combinación. Las clases y sustancias adecuadas incluyen uno o más agentes antibacterianos útiles en el tratamiento de las infecciones por *Mycobacterium*, y/o la tuberculosis, tal como, por ejemplo, rifampicina, isoniazida, pirazinamida, etambutol, quinolonas, (por ejemplo, ciprofloxacina, levofloxacina, moxifloxacina y gatifloxacina), aminoglucósidos (por ejemplo, estreptomina, kanamicina y amikacina), polipéptidos (por ejemplo, capreomicina, viomicina y enviomicina), rifabutina, claritromicina, linezolid, tioacetazona, tioridazina, arginina, vitamina D y R207910.

Ejemplos

Todos los disolventes anhidros, disolventes de calidad de reactivo para cromatografía y materiales de partida se adquirieron de Sigma Aldrich Chemical Co. o Fisher Scientific. Se destiló agua y se purificó a través de un sistema de aguas Milli-Q (Millipore Corp., Bedford, MA). Los procedimientos generales de purificación de compuestos implicaron el uso de cartuchos de sílice adquiridos de Grace Purification Systems. Las reacciones se controlaron por TLC en placas prerrecubiertas de gel de sílice Merck 60 F254 y se visualizaron usando luz UV (254 nm). Se analizó la pureza de todos los compuestos por HPLC y se caracterizaron por RMN ¹H usando espectrómetros Bruker 300 MHz NMR y/o Bruker 400 MHz NMR. Los desplazamientos químicos se indican en ppm (δ) en relación al pico de disolvente residual en los espectros correspondientes; cloroformo δ 7,26, metanol δ 3,31, DMSO-d₆ δ 3,33 y las constantes de acoplamiento (*J*) se indican en hertzios (Hz) (donde s = singlete, s a = singlete ancho, d = doblete, dd = doblete doble, d a = doblete ancho, ddd = doblete de dobletes doble, t = triplete, tt - triplete triplete, c = cuadruplete, m = multiplete) y se analizaron software de procesamiento de datos de RMN ACD. Los valores de espectros de masas se indican como *m/z*. Todas las reacciones se realizaron en una atmósfera de nitrógeno a menos que se indique otra cosa. Los disolventes se retiraron al vacío en un rotavapor.

Abreviaturas: NMP = N-metil pirrolidina; HCl = ácido clorhídrico; DMF = *N,N*-dimetilformamida; NaH = hidruro sódico. IE = ionización por electronebulización; HRMS = espectrometría de masas de alta resolución.

La Figura 6 muestra el Esquema Sintético 1 para la síntesis de los Intermedios 3-9.

5 **Intermedio 3:** A una suspensión agitada de NaH (60 %) en DMF seca, se añadió gota a gota malonato de dietilo durante un periodo de 30 min. A esta mezcla se le añadió en porciones 2-cloro-3-nitropiridina sustituida durante un periodo de 1 h y los contenidos se agitaron a t.a durante 90 min. Los contenidos se calentaron a 80 °C durante un periodo de 30 min y se mantuvieron durante 1 h. Se evaporó DMF de la mezcla de reacción al vacío y el residuo se diluyó con agua. El pH de la mezcla de reacción se ajustó un intervalo de 5-6 y se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con agua, salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró por evaporación rotatoria para obtener un líquido oleoso de color naranja. El compuesto se usó como tal en la siguiente etapa sin purificación adicional.

10 **Intermedio 4:** A una solución agitada del intermedio 3 en DMSO:H₂O se le añadió LiCl y la mezcla de reacción se agitó a 80 °C durante 16 h. Después, la mezcla de reacción se vertió en agua y se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica combinada se lavó con agua, salmuera, se secó sobre sulfato sódico y se concentró a presión reducida. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando acetato de etilo en hexano para proporcionar el intermedio 4.

15 **Intermedio 5:** A una solución agitada del intermedio 4 en DMF, se le añadió DMF-DMA y la mezcla de reacción se agitó a 80 °C durante 16 h. Después de la finalización de la reacción, la mezcla de reacción se vertió en hielo-agua y se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica combinada se lavó con agua, salmuera, se secó sobre sulfato sódico y se concentró a presión reducida para producir el intermedio 5. El material en bruto se recogió para la siguiente etapa sin purificación.

20 **Intermedio 6:** A la solución agitada del intermedio 5 en ácido acético se le añadió polvo de Fe de una sola vez y la mezcla se agitó a 60 °C durante 2 h. Después, la mezcla de reacción se diluyó con metanol y se filtró a través de Celite. El filtrado se concentró a presión reducida. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando acetato de etilo para proporcionar el intermedio 6 en forma de un sólido.

25 **Intermedio 7:** A una solución agitada del intermedio 6 y K₂CO₃ en DMF se le añadió haluro de arilo y la mezcla de reacción se agitó a TA durante 16 h. La mezcla resultante se vertió en agua y se extrajo con diclorometano. La fase orgánica combinada se lavó con agua, salmuera, se secó sobre sulfato sódico y se concentró a presión reducida para producir el intermedio 7 en forma de un sólido o líquido.

O

30 El Intermedio 6 y K₂CO₃ se recogieron en DMF seca en una atmósfera de nitrógeno. A esto se le añadió haluro de arilo. La reacción resultante se agitó a 80 °C durante 3 h. Se evaporó DMF a sequedad, se diluyó con agua y se extrajo con DCM. La purificación se realizó en un sistema Combiflash para obtener el intermedio 7 en forma de un sólido o un líquido.

O

35 El Intermedio 6 se disolvió en DMF en una atmósfera de nitrógeno. A esto se le añadió NaH a 0 °C. Después de 5 min, se añadió haluro de arilo. La reacción resultante se agitó a ta durante 6 h. La reacción se vertió en agua enfriada con hielo, se añadió acetato de etilo. La fase orgánica se separó y se lavó con salmuera y se concentró. La purificación se realizó en un sistema Combiflash para obtener el intermedio 7 en forma de un sólido o un líquido.

40 **Intermedio 8:** A una solución del intermedio 7 en etanol, se le añadió hidróxido de litio en agua. La mezcla de reacción se agitó durante 5 h a TA. El disolvente se evaporó a presión reducida para producir el intermedio 8 en forma de un sólido de color blanquecino.

O

A una solución del intermedio 7 en metanol se le añadió hidróxido de litio en agua. La mezcla de reacción se agitó a 60 °C durante 3 h. El disolvente se evaporó a presión reducida, se neutralizó con ácido acético para producir el intermedio 8 en forma de un sólido de color blanquecino.

La Figura 7 muestra el Esquema Sintético 2 para la síntesis de los Intermedios 11-15.

45 **Intermedio 11:** A una solución de 2-cloro-5-(trifluorometil)piridina (5 g, 27,60 mmol) en metanol se le añadió metóxido sódico (2,98 g, 55,20 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó durante 6 h a TA. Después, el disolvente se retiró al vacío. La mezcla resultante se vertió en agua (100 ml), el agua añadida se extrajo con acetato de etilo (2 x 50 ml). La fase orgánica combinada se lavó con agua, salmuera, se secó sobre sulfato sódico y se concentró a presión reducida para producir 2-metoxi-5-(trifluorometil)piridina (11) en forma de un líquido de color amarillo pálido (4 g, 82,1 %).

50 **Intermedio 12:** A una solución agitada de 2-metoxi 5-(trifluorometil) piridina (4 g, 22,58 mmol) disuelta en acetonitrilo (50 ml) se le añadió en porciones NBS (6 g, 33,87 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó durante una noche a TA. El disolvente se retiró al vacío, se inactivó con agua (100 ml) y se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica combinada se lavó con agua, salmuera, se secó sobre sulfato sódico y se concentró a presión reducida para

producir 3-bromo-2-metoxi-5-(trifluorometil)piridina (**12**) en forma de un líquido amarillo pálido (2 g, 34,7 %).

Intermedio 13: A una solución agitada de 3-bromo-2-metoxi-5-(trifluorometil)piridina (**23**) (1,2 g, 4,68 mmol) disuelta en una mezcla de metanol (10 ml)/tolueno (10 ml) se le añadió trietilamina (1 ml, 7,65 mmol), dicloruro de [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]paladio (II) (70 mg, 0,102 mmol). La mezcla de reacción se carboniló en una atmósfera de CO [5 kg] a 80 °C durante 12 h. Después, el disolvente se filtró a través de Celite y el disolvente se concentró al vacío para obtener un material en bruto. El compuesto en bruto se purificó por usando cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con acetato de etilo al 30 % en hexano para proporcionar 2-metoxi-5-(trifluorometil)nicotinato de metilo (**13**) en forma de un líquido (0,5 g, 45,4 %).

Intermedio 14: A una solución de 2-metoxi-5-(trifluorometil)nicotinato de metilo (**13**) (0,5 g, 2,12 mmol) disuelto en DCM se le añadió DIBAL-H (6,38 ml, 1 M en Tolueno) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó durante 2 h a TA. Después, la mezcla de reacción se inactivó con una solución saturada de NH₄Cl y se extrajo con acetato de etilo (2 x 25 ml). La fase orgánica combinada se lavó con agua, salmuera, se secó sobre sulfato sódico y se concentró a presión reducida para producir (2-metoxi-5-(trifluorometil)piridin-3-il)metanol (**14**) en forma de un líquido amarillo pálido (0,4 g, 90 %).

Intermedio 15: A una solución de 2-metoxi-5-(trifluorometil)piridin-3-il)metanol (**14**) (0,4 g, 1,93 mmol) disuelto en DCM se le añadió cloruro de tionilo (0,38 ml, 3,86 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 2 h a TA. El disolvente se evaporó a presión reducida y la mezcla de reacción se vertió en agua (50 ml) y se extrajo con DCM (2 x 50 ml). La fase orgánica combinada se lavó con agua, salmuera, se secó sobre sulfato sódico y se concentró a presión reducida para producir 3-(clorometil)-2-metoxi-5-(trifluorometil)piridina (**15**) en forma de un líquido. (Rendimiento 0,3 g, 69,76 %)

La Figura 8 muestra el Esquema Sintético 3 para la síntesis de los Intermedios 17-21.

Intermedio 17: A una solución de ácido 2,6-dicloro-5-fluoronicotínico (**16**) (5 g, 23,8 mmol) en metanol (50 ml) se le añadió gota a gota cloruro de tionilo (5,66 g, 47,62 mmol) a 0 °C y 2 gotas de DMF [se observó burbujeo vigoroso]. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. A esto se le añadió metanol y la mezcla de reacción se agitó durante 2 h a TA. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida y la mezcla se vertió en agua enfriada con hielo (20 ml) y se extrajo con diclorometano (2 x 50 ml). La fase orgánica combinada se lavó con agua, salmuera, y el disolvente se evaporó a presión reducida para producir 2,6-dicloro-5-fluoronicotinato de metilo (**17**) (5 g, 93,8 %).

Intermedio 18: Una mezcla de 2,6-dicloro-5-fluoronicotinato de metilo (**17**) (3,5 g 15,62 mmol), trimetilboroxina (1,96 g, 15,62 mmol), dicloruro de 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno-paladio (II) diclorometano (1,276 g, 1,562 mmol) y carbonato de cesio 15,27 g, 46,86 mmol) se calentó a 110 °C durante una noche. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc. La fase orgánica combinada se lava con agua, seguido de salmuera, después se secó sobre sulfato sódico anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice usando un gradiente de EtOAc al 0-30 %/heptanos para proporcionar 2-cloro-5-fluoro-6-metilnicotinato de metilo (**18**) 0,8 g en forma de un sólido incoloro (0,8 g 25 %).

Intermedio 19: A una solución agitada de 2-cloro-5-fluoro-6-metilnicotinato de metilo (**18**) (0,8 g, 3,92 mmol,) en THF (35 ml) se le añadió metanolato sódico (0,42 g, 7,85 mmol) a 0 °C. La mezcla se agitó a 60 °C durante 6 horas y se enfrió a temperatura ambiente. Después, la mezcla se vertió en agua y se extrajo con diclorometano (2 x 50 ml). La fase orgánica combinada se lavó con agua, salmuera y el disolvente se evaporó a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice, eluyendo con acetato de etilo al 10 % en hexano para dar 5-fluoro-2-metoxi-6-metilnicotinato de metilo (**19**) (250 mg, 32 %) en forma de un sólido de color blanco.

Intermedio 20: A una solución de 5-fluoro-2-metoxi-6-metilnicotinato de metilo (**19**) (0,25 g, mmol) en MDC se le añadió gota a gota DIBAL-H (2,5 ml, 1 M en Tolueno) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó durante 2 h a TA. La reacción se interrumpió con una solución saturada de cloruro de amonio y se extrajo con DCM (2 x 50 ml). La fase orgánica combinada se lavó con agua, salmuera y el disolvente se evaporó a presión reducida para producir (5-fluoro-2-metoxi-6-metilpiridin-3-il)metanol (**20**) en forma de un líquido (0,2 g 90 %).

Intermedio 21: A una solución de (5-fluoro-2-metoxi-6-metilpiridin-3-il)metanol (**20**) (0,2 g, 1,16 mmol) en DCM se le añadió cloruro de tionilo (0,278 g, 2,33 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 2 h a TA. El disolvente se evaporó a presión reducida y la mezcla de reacción se vertió en agua (50 ml) y se extrajo con DCM (2 x 50 ml). La fase orgánica combinada se lavó con agua, salmuera, se secó sobre sulfato sódico y se concentró a presión reducida para proporcionar 3-(clorometil)-5-fluoro-2-metoxi-6-metilpiridina (**21**) en forma de un líquido de color amarillo pálido (0,2 g) 90 %.

La Figura 9 muestra el Esquema Sintético 4, para la síntesis de los Intermedios 23-25.

Intermedio 23: A una solución de 6-cloro-5-metilpirimidin-4-carboxilato de etilo (**35**) (0,9 g, 4,48 mmol) disuelto en dioxano (20 ml) se le añadieron dimetilamina en THF (1 M, 22,43 ml, 22,43 mmol) y diisopropiletilamina (3 ml, 22,43 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 80 °C durante 16 h. Después, la mezcla se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc (2 x 50 ml). La fase orgánica combinada se lavó con agua, salmuera, se secó sobre sulfato sódico y se concentró a presión reducida para producir 6-(dimetilamino)-5-

metilpirimidin-4-carboxilato de etilo (**23**) en forma de un líquido de color amarillo; 0,4 g (43 %).

Intermedio 24: A una solución agitada de 6-(dimetilamino)-5-metilpirimidin-4-carboxilato de etilo (**23**) (0,4 g, 1,91 mmol) en MeOH (10 ml) se le añadió en porciones NaBH₄ (0,14 g, 3,82 mmol) a 0 °C y la mezcla se agitó durante 16 h a TA. El disolvente se evaporó a presión reducida y la mezcla de reacción se vertió en agua (20 ml) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 30 ml). La fase orgánica combinada se lavó con agua, salmuera, se secó sobre sulfato sódico y se concentró a presión reducida para producir 6-(dimetilamino)-5-metilpirimidin-4-il)metanol (**24**); 0,1 g, (31,3 %).

Intermedio 25: A una solución de 6-(dimetilamino)-5-metilpirimidin-4-il)metanol (**24**) (0,1 g, 0,60 mmol) en DCM se le añadió cloruro de tionilo (0,14 g, 1,1961 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 4 h a TA. El disolvente se retiró a presión reducida para proporcionar 6-(Clorometil)-N,N,5-trimetilpirimidin-4-amina (**25**) en forma de un sólido de color blanco; 0,1 g, 90,9 %).

La Figura 10 muestra el Esquema Sintético 5, para la síntesis de los Intermedios 27-30.

Intermedio 27: Se añadió lentamente 2-cloro-6-trifluorometilpiridina (1,0 g, 5,5 mmol) en una solución en THF (10 ml) a una solución enfriada (a -78 °C) de LDA (4,58 ml, 8,2 mmol) en THF seco (15 ml). La mezcla resultante se agitó durante 4 h a -78 °C, antes de la adición de yoduro de metilo (0,705 ml, 0,0082 mol) en THF (4 ml). La agitación se continuó durante 4 h a -75 °C, antes de inactivar con agua (10 ml) a la misma temperatura, y de la adición adicional de agua (15 ml) a 0 °C después de 2 h. El producto en bruto se extrajo con acetato de etilo, se lavó con solución de salmuera y la fase orgánica combinada se secó sobre Na₂SO₄ y el disolvente se retiró al vacío para proporcionar un sólido en bruto, que se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida sobre sílice (acetato de etilo/éter de petróleo (0-10 %) para proporcionar **27** en forma de un sólido de color blanquecino; (0,6 g, 33 %).

Intermedio 28: En un pequeño aparato de autoclave, se disolvió 2-cloro-3-metil-6-(trifluorometil)piridina (**27**) (0,5 g, 2,5 mmol) en MeOH (10 ml) y se añadió TEA (0,5 ml, 3,7 mmol), que se desgasificó durante 15 minutos con nitrógeno antes de añadir complejo de Pd(dppf)Cl₂.DCM (0,061 g, 0,075 mmol). El pequeño autoclave se cargó con gas de CO (0,52 MPa (75 psi), 5 kg) y se calentó a 75 °C durante 16 h. La mezcla se filtró a través de Celite y se lavó con metanol. El filtrado combinado se concentró y el material en bruto se purificó cromatografía en columna ultrarrápida sobre sílice (acetato de etilo/hexano (0-10 %) para proporcionar 3-metil-6-(trifluorometil)picolinato de metilo (**28**): sólido de color blanquecino; (280 mg, 49,9 %).

Intermedio 29: A una solución de 3-metil-6-(trifluoro metil)picolinato de metilo (0,28 g) en DCM (10 ml) a -78 °C se le añadió DIBAL-H (1,92 ml, 1,91 mmol) en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se dejó alcanzar ta y se agitó durante 1 h. El MP se inactivó con una solución de cloruro de amonio y se extrajo con acetato de etilo (3,30 ml). La fase orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró para dar 3-metil-6-(trifluorometil)piridin-2-il)metanol (**29**). El alcohol en bruto se recogió directamente para la siguiente etapa (180 mg, 72 %).

Intermedio 30: A una solución de (3-metil-6-(trifluorometil)piridin-2-il)metanol (**29**) (0,18 g, 0,94 mmol) en DCM (5 ml) se le añadió cloruro de tionilo (0,112 g, 0,95 mmol) y se agitó a ta durante 2 h. Después de la finalización de la reacción, la mezcla se concentró y se lavó con hexano para proporcionar 2-(clorometil)-3-metil-6-(trifluorometil)piridina (**30**). El sólido en bruto se recogió directamente para la siguiente etapa (180 mg, 91,8 %).

La Figura 11 muestra el Esquema Sintético 6, para la síntesis de los Intermedios 32-33.

Intermedio 32: A una solución agitada de 1-(2,4-dimetilfenil)etan-1-ona (1,0 g, 0,0067 mol) en MeOH (10 ml) se le añadió en porciones NaBH₄ (0,77 g, 0,0020 mol) 0 °C. La mezcla resultante se agitó a TA durante 1 h. Después de la finalización de la reacción, la mezcla se inactivó con agua enfriada con hielo (2,5 ml) y el disolvente se concentró a presión reducida. La mezcla de reacción se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc (3 x 15 ml). La fase orgánica combinada se lavó con agua, salmuera, se secó sobre sulfato sódico y se concentró a presión reducida. La mezcla en bruto se pasó simplemente a través de una capa de gel de sílice y se lavó con 3:1 de hexanos: EtOAc (0,9 g, 88,8 %) para proporcionar el compuesto del título **32** en forma de un sólido de color blanco.

Intermedio 33: A una solución agitada de 1-(2,4-dimetilfenil)etan-1-ol (**32**) (0,9 g, 0,006 mol) en CH₂Cl₂ (10 ml) se le añadió tribromuro fosforoso (0,85 ml, 0,009 mol) a temperatura ambiente. La agitación se continuó durante 2 h más a la misma temperatura. La mezcla se inactivó con agua y se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 15 ml). La fase orgánica combinada se lavó con agua, salmuera, se secó sobre sulfato sódico y se concentró a presión reducida para dar el producto del título (**33**) en forma de un sólido de color naranja claro (900 mg, rendimiento del 70,8 %).

La Figura 12 muestra el Esquema Sintético 7, para la síntesis de los Intermedios 35-37.

Intermedio 35: Una solución de 2,5-dibromo-3-metilpiridina (**1**) 3 g, 12,1 mmol) en metanol (20 ml) se añadió metóxido sódico (2 M, 20 ml) y se sometió a reflujo a 100 °C durante 2 h. La mezcla de reacción se vertió en agua enfriada con hielo y se neutralizó con ácido clorhídrico acuoso (1 M) y se extrajo con diclorometano (2 x 15 ml). La fase orgánica combinada se lavó con agua, salmuera, se secó sobre sulfato sódico y se concentró a presión reducida para dar 5-bromo-2-metoxi-3-metil-piridina (**35**), que se usó sin purificación adicional (1,9 g, 77,8 %).

Intermedio 36: A una solución de 5-bromo-2-metoxi-3-metil-piridina (1,0 g, 5,0 mmol) en DMF (10 ml) se le añadió CuCN (0,534 g, 6,0 mmol) y la mezcla resultante se calentó a reflujo durante 28 h. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla se diluyó con EtOAc y se lavó con una solución al 10 % de amoniaco, seguido de agua y una solución de salmuera. La fase orgánica se separó, se secó sobre MgSO₄ y se evaporó a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (EtOAc al 5 %/Hexano) para dar 5-ciano-2-metoxi-3-metilpiridina (**36**) (0,68 g, 93 %).

Intermedio 37: A una solución de metil 5-ciano-2-metoxi-3-metil-piridina (**36**) (0,25 g, 1,7 mmol) en CCl₄ (10 ml) se le añadieron N-bromosuccinimida (346 mg, 1,7 mmol) y 2',2'-azobisisobutironitrilo (13,0 mg, 0,085 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 80 °C durante 1 h. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró para proporcionar 5-(bromometil)-6-metoxi nicotinonitrilo (**37**) en forma de un sólido de color amarillo; (180 mg, 46,9%).

La Figura 13 muestra el Esquema Sintético 8, para la síntesis de los Intermedios 39-44.

Intermedio 39: A una solución de **38** (300 g, 2,94 mol) y propionato de etilo (429,4 g, 2,94 mol) en 1,8 l de EtOH anhidro se le añadió NaOEt (300 g, 4,41 mol) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó durante una noche. Después de un periodo de refrigeración, la mezcla se ajustó a pH = 7 con HCl 6 N. La mezcla se concentró al vacío. El residuo se diluyó con agua y después se extrajo con EtOAc. Las fases de EtOAc combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron al vacío para formar el producto **39** (400 g, 67 %) en forma de un líquido de color rojo, que se usó sin purificación adicional para la siguiente etapa. RMN ¹H: (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 4,103-4,386 (m, 5H); 1,246-1,439 (m, 9H).

Intermedio 40: Una mezcla de **39** (300 g, 1,485 mol), acetato de formimidamida (225 g, 2,12 mol) y NaOEt (160 g, 2,36 mol) en EtOH (2000 ml) se calentó a reflujo durante 12 horas. Después de un periodo de refrigeración, la mezcla se ajustó a pH = 7 con HCl 6 N. La mezcla se concentró al vacío. El residuo se diluyó con agua y después se extrajo con DCM. Las fases de DCM combinadas se lavaron con agua, salmuera y se concentraron al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (PE: EtOAc = 1:1--EtOAc puro) para proporcionar el producto en forma de un sólido de color blanco (80 g, rendimiento del 30 %). EN+EM m/z: 183,0 (M+1). RMN ¹H: (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 8,126 (s, 1H); 4,345-4,399 (m, 2H); 2,242 (s, 3H); 1,337-1,373 (t, 3H).

Intermedio 41: Una solución de **40** (80 g, 0,44 mol) en POCl₃ (800 g) se calentó a reflujo durante 4 horas. Después de un periodo de refrigeración, el exceso de POCl₃ se retiró a presión reducida para dar **41** (88 g en bruto, rendimiento del 100 %) en forma de un aceite de color negro. EN+EM m/z: 201,0 (M+1). RMN ¹H: (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 8,954 (s, 1H); 4,492-4,545 (m, 2H); 2,591 (s, 3H); 1,454-1,490 (t, 3H).

Intermedio 42: A una solución de **41** (88 g, 0,4 mol) en CH₃OH (1 l) se le añadió CH₃ONa (40 g, 0,74 mol) a temperatura ambiente y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La mezcla se ajustó a pH = 7 con HCl 6 N. La mezcla se concentró al vacío. El residuo se diluyó con agua y después se extrajo con EtOAc. Las fases de EtOAc combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentraron al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (PE: EtOAc = 5:1) para proporcionar **42** (10 g, rendimiento del 14 %) en forma de un aceite de color amarillo. EN+EM m/z: 197,0 (M+1). RMN ¹H: (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 8,626 (s, 1 H), 4,357-4,410 (m, 2 H), 3,969 (s, 3 H), 2,279 (s, 3 H), 1,344-1,380 (t, 3H).

Intermedio 43: A una solución de **42** (10 g, 0,057 mol) en CH₃OH (100 ml) se le añadió NaBH₄ (10 g, 0,29 mol) a 0 °C y la reacción resultante se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 2 h. La mezcla se concentró al vacío y se repartió entre agua y EtOAc. La fase de agua se extrajo con EtOAc. Las fases de EtOAc combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron al vacío para proporcionar **43** (7,5 g, rendimiento del 85 %) en forma de un sólido de color blanco. EN+EM m/z: 155,0 (M+1). RMN ¹H: (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 8,629 (s, 1 H), 4,641 (s, 2 H), 4,007 (s, 3 H), 2,028 (s, 3 H).

Intermedio 44: A una solución de **43** (7,5 g, 48,7 mmol) en DCM (150 ml) se le añadió SOCl₂ (75 g, 0,64 mol) a 0 °C. La reacción resultante se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 2 h. La TLC mostró que el material de partida se había consumido. La mezcla se concentró al vacío para proporcionar **44** (8,3 g, rendimiento del 99 %) en forma de un sólido de color amarillo; EN+EM m/z: 173,0 (M+1). RMN ¹H: (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 8,877 (s, 1 H), 4,992 (s, 2 H), 4,207 (s, 3 H), 2,317 (s, 3 H).

La Figura 14 muestra el Esquema Sintético 9, para la síntesis de los Intermedios 41-47.

Intermedio 41: Una solución de 6-hidroxi-5-metilpirimidin-4-carboxilato de etilo **40** (100 g, 549 mmol) en POCl₃ (1000 ml) se calentó a reflujo durante 5 h a 100 °C un tubo cerrado herméticamente. Después de enfriar a TA, el exceso de POCl₃ se retiró a presión reducida, después se inactivó con agua enfriada con hielo y se extrajo con EtOAc. La fase orgánica combinada se lavó con agua, salmuera y se concentró a presión reducida para proporcionar 6-cloro-5-metilpirimidin-4-carboxilato de etilo **41** en forma de un líquido de color negro. Rendimiento: 80 g (72%). Este material se usó como tal para la siguiente etapa sin purificación.

Intermedio 45: A una solución de 6-cloro-5-metilpirimidin-4-carboxilato de etilo (**41**) (80 g, 398,0 mmol) disuelto en dioxano (800 ml) se le añadieron dimetilamina en THF (2 M, 600 ml, 1196,0 mmol) y diisopropiletilamina (330 ml, 1990,0 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 80 °C durante 16 h. Después, la mezcla se enfrió a temperatura

ambiente, se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc (2 x 50 ml). La fase orgánica combinada se lavó con agua, salmuera, se secó sobre sulfato sódico y se concentró a presión reducida para producir 6-(dimetilamino)-5-metilpirimidin-4-carboxilato de etilo (**45**) en forma de un líquido de color amarillo; rendimiento: 60 g (72%).

5 **Intermedio 46:** A una solución agitada de 6-(dimetilamino)-5-metilpirimidin-4-carboxilato de etilo (**45**) (60,0 g, 287,0 mmol) en EtOH (600 ml) se le añadió en porciones NaBH₄ (21,82 g, 574,0 mmol) a 0 °C y la mezcla se agitó durante 16 h a TA. El disolvente se evaporó a presión reducida y la mezcla de reacción se vertió en agua (200 ml) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 100 ml). La fase orgánica combinada se lavó con agua, salmuera se secó sobre sulfato sódico y se concentró a presión reducida para producir (6-(dimetilamino)-5-metilpirimidin-4-il)metanol (**46**); 47 g, (97%).

10 **Intermedio 47:** A una solución de (6-(dimetilamino)-5-metilpirimidin-4-il)metanol (**46**) (40 g, 239 mmol) en DCM se le añadió cloruro de tionilo (35 ml, 478 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 4 h a TA. El disolvente se retiró a presión reducida para proporcionar 6-(Clorometil)-N,N,5-trimetilpirimidin-4-amina (**47**) en forma de un sólido de color pardo; Rendimiento: 40 g (90,9 %); RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 8,69 (s, 1H), 4,86 (s, 2 H), 3,27 (s, 6H), 2,35 (s, 3H).

15 La Figura 15 muestra el Esquema Sintético 10, para la síntesis de los Intermedio 48a y 48b-50.

20 **Intermedio 48b:** En un matraz de fondo redondo (5 litros) se recogió 6-hidroxi-5-metilpirimidin-4-carboxilato de etilo **40** (85 g, 466 mmol), sal sódica del ácido clorodifluoroacético (106,7 g, 699 mmol), carbonato sódico (98,9 g, 933 mmol), acetonitrilo (1500 ml) y DMF (425 ml). La mezcla de reacción se calentó a 90 °C durante 16 h. El progreso de la reacción se controló por CLEM. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y después se neutralizó con cloruro de amonio saturado. El disolvente se retiró al vacío y se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica combinada se lavó con agua, salmuera y se concentró a presión reducida. El compuesto en bruto se purificó a través de cromatografía sobre gel de sílice eluyendo (acetato de etilo al 3-4 %) para proporcionar 6-(difluorometoxi)-5-metilpirimidin-4-carboxilato de etilo **48b** en forma de un líquido de color amarillo pálido. Rendimiento: 14 g (13%).

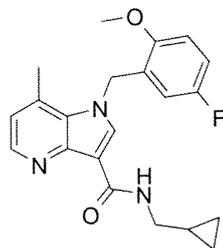
25 **Intermedio 49:** A una solución agitada de 6-(difluorometoxi)-5-metilpirimidin-4-carboxilato de etilo **48b** (14 g, 60,30 mmol) en etanol (200 ml), se le añadió NaBH₄ (4,58 g, 120,59 mmol) a 0 °C y la mezcla se agitó durante 16 h a TA. Después, el disolvente se evaporó a presión reducida y la mezcla de reacción se vertió en agua y se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con agua, salmuera y se concentró a presión reducida para proporcionar (6-(difluorometoxi)-5-metilpirimidin-4-il)metanol **39** en forma de un sólido de color amarillo. Rendimiento: 8,4 g (73,3%).

30 **Intermedio 50:** A una solución de (6-(difluorometoxi)-5-metilpirimidin-4-il)metanol **49** (15 g, 78,94 mmol) disuelto en DCM (150 ml) se le añadió cloruro de tionilo (8,59 ml, 118,42 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 4 h a TA. El disolvente se retiró en una bomba de vacío para proporcionar 4-(clorometil)-6-(difluorometoxi)-5-metilpirimidina **50** en forma de un sólido de color pardo. Rendimiento: 14 g (85%); RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 8,74 (s, 1H), 7,77 (t, 1H, J = 95,4 Hz), 4,81 (s, 2 H), 2,24 (s, 3H).

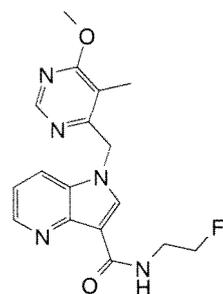
35 **Ejemplo 1: 1-(1-(2,6-difluorofenil)etil)-N-(2-fluoroetil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida**



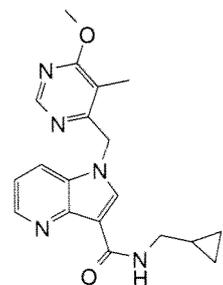
40 Véase la Figura 16(a). Se recogieron ácido 1-(1-(2,6-difluorofenil)etil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxílico (0,090 g, 0,30 mmol), 2-fluoroetanamina (0,019 g, 0,30 mmol) y trietilamina (0,166 ml, 1,19 mmol) en DCM (15 ml) en una atmósfera de N₂ y se agitaron. Después de 5 min, se añadió anhídrido cíclico del ácido 1-propanofosfónico (0,379 g, 1,19 mmol). La reacción resultante se agitó a ta durante 40 min. El análisis de CLEM mostró la formación del producto requerido. La reacción se diluyó con DCM y agua. La fase de DCM se extrajo y se lavó con salmuera, y se secó sobre sulfato sódico y se concentró. La purificación se realizó en un sistema Waters RP para obtener el producto 1-(1-(2,6-difluorofenil)etil)-N-(2-fluoroetil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida (0,040 g, 38,7 %) en forma de un sólido. EN+EM m/z: 348,40. RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 2,05 (d, J = 6,97 Hz, 3 H) 3,67 (c, J = 5,21 Hz, 1 H) 3,71 - 3,82 (m, 1 H) 4,49 (t, J = 4,90 Hz, 1 H) 4,65 (t, J = 4,99 Hz, 1 H) 6,22 (c, J = 7,16 Hz, 1 H) 7,13 (t, J = 8,57 Hz, 2 H) 7,29 (dd, J = 8,48, 4,71 Hz, 1 H) 7,34 - 7,52 (m, 1 H) 7,80 (d, J = 8,29 Hz, 1 H) 8,41 (s, 1 H) 8,50 (d, J = 4,71 Hz, 1 H) 8,92 (t, J = 5,75 Hz, 1 H).

Ejemplo 2: N-(Ciclopropilmetil)-1-(5-fluoro-2-metoxibencil)-7-metil-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida

Véase la Figura 16(b). A una solución agitada de ácido 1-(5-fluoro-2-metoxibencil)-7-metil-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxílico (0,22 g, 0,000699 moles) en diclorometano (10 ml) se le añadieron 2-fluoroetan-1-amina (0,06 g, 0,000836 moles), trietilamina (0,29 ml, 0,002 moles) y T3P (1,32 ml, 0,002 moles) y la mezcla se agitó durante 16 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se vertió en agua y se extrajo con diclorometano. La fase orgánica combinada se lavó con agua, salmuera, y el disolvente se evaporó a presión reducida. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida usando acetato de etilo al 50 % en hexano para proporcionar N-(ciclopropilmetil)-1-(5-fluoro-2-metoxibencil)-7-metil-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida en forma de un sólido de color blanquecino. Rendimiento 24 %. EN+EM m/z: 368. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm: 0,22-0,24 (m, 2 H), 0,48-0,50 (m, 2 H), 1,05-1,09 (m, 1 H), 2,44 (s, 3H), 3,28 (t, 2H, J = 6,2 Hz), 3,86 (s, 3H), 5,63 (s, 2 H), 5,97-6,00 (m, 1H), 7,03-7,04 (m, 1H), 7,12-7,14 (m, 2 H), 8,22 (s, 1H), 8,37 (d, 1H, J = 4,8 Hz), 9,01 (t, 1H, J = 5,6 Hz).

Ejemplo 3: N-(2-fluoroetil)-1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida

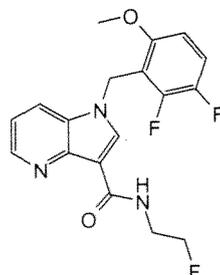
Véase la Figura 16(c). Se recogió ácido 1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxílico (250 mg, 0,84 mmol) en un matraz de una sola boca de 100 ml, equipado con un condensador de aire conectado a una fuente de nitrógeno. Se añadió DCM (10 ml) para obtener una suspensión. Se añadió trietilamina (1,162 ml, 8,38 mmol) para obtener una solución transparente. Se añadió anhídrido cíclico del ácido 1-propanofosfónico (1,497 ml, 2,51 mmol), seguido de la adición de clorhidrato de 2-fluoroetanamina (83 mg, 0,84 mmol). La masa de reacción se agitó a TA durante una noche, se observó una suspensión. Después de la finalización de la reacción, se diluyó con DCM, se añadió agua y la fase de DCM separada se lavó con una solución de salmuera. La fase de DCM se secó sobre sulfato sódico, se evaporó y el compuesto se purificó por cromatografía en columna. Rendimiento - 52 %. EN+EM m/z: 344 (M+1). RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 2,25 (s, 20 H) 3,67 (d, J = 5,46 Hz, 7 H) 3,77 (d, J = 5,46 Hz, 7 H) 4,50 (t, J = 4,90 Hz, 7 H) 4,66 (t, J = 4,99 Hz, 7 H) 5,69 (s, 13 H) 7,26 (dd, J = 8,29, 4,71 Hz, 7 H) 7,94 (d, J = 8,48 Hz, 7 H) 8,28 (s, 7 H) 8,41 (s, 6 H) 8,49 (d, J = 4,52 Hz, 7 H) 8,95 (t, J = 5,84 Hz, 7 H).

Ejemplo 4: N-(ciclopropilmetil)-1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida

Véase la Figura 16(b). Se recogió ácido 1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxílico (200 mg, 0,67 mmol) en DCM (10 ml). Se añadió anhídrido cíclico del ácido 1-propanofosfónico (427 mg, 1,34 mmol), seguido de la adición de trietilamina (339 mg, 3,35 mmol) y ciclopropilmetanamina (95 mg, 1,34 mmol). La masa de reacción se agitó a TA durante una noche. Después de la finalización de la reacción, se añadió agua y se extrajo con DCM. La fase orgánica se lavó con agua y una solución de salmuera. La fase orgánica se separó, se secó sobre sulfato sódico. La fase orgánica se evaporó para obtener el residuo, que se purificó por cromatografía en

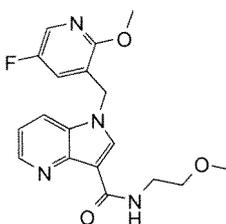
columna para obtener el compuesto puro. Rendimiento - 74 %. EN+EM m/z: 352,38 (M+1). RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0,02 (c, J = 4,58 Hz, 2 H) 0,18 - 0,31 (m, 2 H) 0,83 (t, J = 6,88 Hz, 1 H) 2,00 (s, 3 H) 2,98 - 3,11 (m, 3 H) 3,69 (s, 3 H) 5,43 (s, 2 H) 7,00 (dd, J = 8,29, 4,71 Hz, 1 H) 7,68 (dd, J = 8,29, 1,13 Hz, 1 H) 7,98 (s, 1 H) 8,17 (s, 1 H) 8,24 (dd, J = 4,71, 1,13 Hz, 1 H) 8,55 (t, J = 5,75 Hz, 1 H).

5 **Ejemplo 5: 1-(2,3-difluoro-6-metoxibencil)-N-(2-fluoroetil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida**



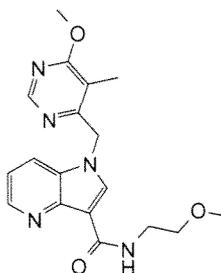
Véase la Figura 17(a). En un matraz de fondo redondo de 50 ml se añadió N-(2-fluoroetil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida (0,1 g, 0,48 mmol) en DMF (10 ml) para dar una suspensión incolora. La mezcla de reacción se enfrió a 0 °C y se añadieron carbonato potásico (0,200 g, 1,45 mmol) y 2-(bromometil)-3,4-difluoro-1-metoxibenceno (0,114 g, 0,48 mmol), después el MP se agitó a 80 °C durante 4 h. La reacción se controló por CLEM. La DMF se concentró al vacío, se añadió agua y se extrajo con DCM. La fase orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se evaporó para dar un producto en bruto. El material en bruto se purificó en un sistema de HPLC preparativa de fase inversa para obtener 1-(2,3-difluoro-6-metoxibencil)-N-(2-fluoroetil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida (0,060 g, 34,2 %). EN+EM m/z: 364 (M+1). RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ ppm 8,90 (s, 1 H), 8,50 (d, J = 4,3 Hz, 1 H), 8,02 - 8,15 (m, 2 H), 7,30 - 7,52 (m, 2 H), 6,92 (d, J = 8,7 Hz, 1 H), 5,53 (s, 2 H), 4,63 (t, J = 4,4 Hz, 1 H), 4,47 (t, J = 4,8 Hz, 1 H), 3,86 (s, 3 H), 3,74 (d, J = 5,3 Hz, 1 H), 3,65 (d, J = 5,3 Hz, 1 H).

15 **Ejemplo 6: 1-((5-fluoro-2-metoxipiridin-3-il)metil)-N-(2-metoxietil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida**



Véase la Figura 17(b). Se recogió ácido 1-((5-fluoro-2-metoxipiridin-3-il)metil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxílico (100 mg, 0,33 mmol) en diclorometano (15 ml) para obtener una suspensión. Se añadió trietilamina (230 ml, 1,66 mmol) para obtener una solución transparente. Se añadió anhídrido cíclico del ácido 1-propanofosfónico (198 ml, 0,66 mmol) y se agitó a TA durante 5 minutos. Se añadió 2-metoxietanamina (74,8 mg, 1,00 mmol) y la masa de reacción se agitó a TA durante 2 h. Después de la finalización de la reacción, la masa de reacción se diluyó con DCM, se lavó con agua, y una solución de salmuera. La fase de DCM se separó, se secó sobre sulfato sódico y se evaporó para obtener el compuesto en bruto. El compuesto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice usando metanol y diclorometano como eluyente. Rendimiento - 63%. EN+EM m/z: 359,1 (M+1). RMN ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 3,44 - 3,52 (m, 2 H) 3,56 (c, J = 5,46 Hz, 2 H) 3,89 (s, 3 H) 5,47 (s, 2 H) 7,31 (dd, J = 8,20, 4,73 Hz, 1 H) 7,46 (dd, J = 8,20, 2,84 Hz, 1 H) 8,09 - 8,22 (m, 2 H) 8,31 (s, 1 H) 8,51 (dd, J = 4,73, 0,95 Hz, 1 H) 8,85 (t, J = 5,52 Hz, 1 H).

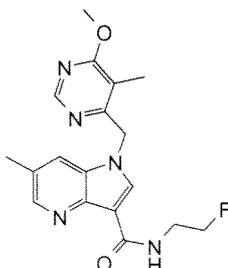
20 **Ejemplo 7: 1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-N-(2-metoxietil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida**



25 Véase la Figura 17(c). Se recogió ácido 1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxílico (200 mg, 0,67 mmol) en DCM (10 ml) para obtener una suspensión. Se añadió trietilamina (0,929 ml, 6,70 mmol) para obtener una solución transparente. Se añadió anhídrido cíclico del ácido 1-propanofosfónico (1,197 ml, 2,01

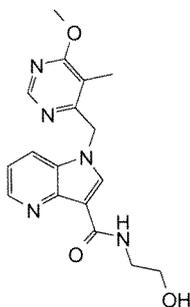
mmol) y se agitó a TA durante 5 minutos. Se añadió 2-metoxietanamina (151 mg, 2,01 mmol) y se agitó a TA durante una noche. Después de la finalización de la reacción, la masa de reacción se diluyó con DCM, se lavó con agua, una solución de salmuera, y después se evaporó para obtener el compuesto en bruto. El compuesto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice. Rendimiento - 90 %. EN+EM m/z: 356,2 (M+1). RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 2,24 (s, 3 H) 3,30 (s, 3 H) 3,43 - 3,63 (m, 4 H) 3,93 (s, 3 H) 5,68 (s, 2 H) 7,24 (dd, *J* = 8,29, 4,71 Hz, 1 H) 7,92 (dd, *J* = 8,38, 1,22 Hz, 1 H) 8,25 (s, 1 H) 8,41 (s, 1 H) 8,48 (dd, *J* = 4,71, 1,13 Hz, 1 H) 8,85 (t, *J* = 5,65 Hz, 1 H).

Ejemplo 8: N-(2-fluoroetil)-1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-6-metil-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida

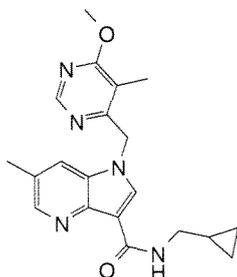


Véase la Figura 17(d). A ácido 1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-6-metil-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxílico (0,190 g, 0,61 mmol) y 2-fluoroetanamina (0,077 g, 1,22 mmol), se les añadió TEA (0,254 ml, 1,83 mmol). Después de 3 min, se añadió anhídrido cíclico del ácido 1-propanofosfónico (0,484 g, 1,52 mmol). La mezcla de reacción resultante se agitó a ta durante 50 min. El análisis de CLEM confirmó la formación del producto requerido. La reacción se diluyó con DCM y agua. La fase de DCM se extrajo y se lavó con salmuera, y se secó sobre sulfato sódico y se concentró. La purificación se realizó en un sistema Waters RP para obtener el producto N-(2-fluoroetil)-1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-6-metil-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida (0,090 g, 41,4 %). EN+EM m/z: 358,36. RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 2,17 - 2,30 (3, 3H) 2,40 (s, 3 H) 3,59 - 3,73 (m, 1 H) 3,73 - 3,83 (m, 1 H) 3,94 (s, 3H) 4,50 (t, *J* = 4,99 Hz, 1 H) 4,66 (t, *J* = 4,99 Hz, 1 H) 5,64 (s, 2 H) 7,76 (s, 1 H) 8,15 (s, 1 H) 8,35 (s, 1 H) 8,42 (s, 1 H) 8,87 (t, *J* = 5,84 Hz, 1 H).

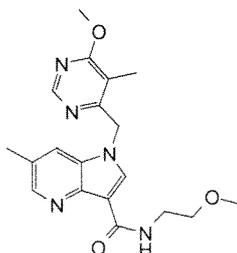
Ejemplo 9: N-(2-hidroxi-etil)-1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida



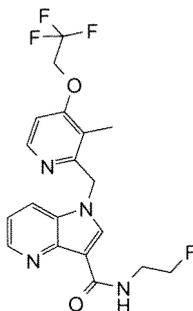
Véase la Figura 18(a). Se recogió ácido 1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxílico (1 g, 3,35 mmol) en DCM (20 ml) para obtener una suspensión. Se añadió trietilamina (1,394 ml, 10,06 mmol), seguido de la adición de anhídrido cíclico del ácido 1-propanofosfónico (3,991 ml, 6,70 mmol). La masa de reacción se agitó a TA durante 5 minutos. Se añadió etanolamina (6,02 ml, 10,06 mmol) y se agitó a TA durante 2 h. Después de la finalización de la reacción, se diluyó con DCM y después se lavó con agua y una solución de salmuera. La fase orgánica se separó, se secó, se evaporó y el compuesto en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice. Rendimiento - 45 %. EN+EM m/z: 342 (M+1). RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 2,24 (s, 3 H) 3,37 - 3,64 (m, 4 H) 3,94 (s, 3 H) 4,80 (t, *J* = 4,99 Hz, 1 H) 5,67 (s, 2 H) 7,24 (dd, *J* = 8,29, 4,52 Hz, 1 H) 7,92 (d, *J* = 8,10 Hz, 1 H) 8,23 (s, 1 H) 8,41 (s, 1 H) 8,47 (d, *J* = 4,52 Hz, 1 H) 8,85 (t, *J* = 5,37 Hz, 1 H).

Ejemplo 10: N-(ciclopropilmetil)-1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-6-metil-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida

Véase la Figura 18(b). A ácido 1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-6-metil-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxílico (0,100 g, 0,32 mmol) y ciclopropilmetanamina (0,046 g, 0,64 mmol), se les añadió TEA (0,134 ml, 0,96 mmol). Después de 3 min, se añadió anhídrido cíclico del ácido 1-propanofosfónico (0,255 g, 0,80 mmol). La mezcla de reacción resultante se agitó a ta durante 50 min. El análisis de CLEM mostró la formación del producto requerido. La reacción se diluyó con DCM y agua. La fase de DCM se extrajo y se lavó con salmuera, y se secó sobre sulfato sódico y se concentró. La purificación se realizó en un sistema Waters RP para obtener el producto N-(ciclopropilmetil)-1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-6-metil-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida (0,045 g, 38,5 %). EN+EM m/z: 366,44. RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0,21 - 0,33 (m, 2H) 0,41 - 0,56 (m, 2 H) 1,08 (m, J = 6,97 Hz, 1 H) 2,24 (s, 3 H) 2,40 (s, 3 H) 3,26 (d., 2 H) 3,94 (s, 3 H) 5,63 (s, 2 H) 7,75 (s, 1 H) 8,11 (s, 1 H) 8,35 (s, 1 H) 8,42 (s, 1H) 8,74 (t, J = 5,65 Hz, 1 H).

Ejemplo 11: 1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-N-(2-metoxietil)-6-metil-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida

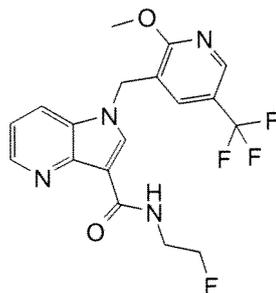
Véase la Figura 18(c). A ácido 1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-6-metil-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxílico (0,100 g, 0,32 mmol) y 2-metoxietanamina (0,048 g, 0,64 mmol), se les añadió TEA (0,134 ml, 0,96 mmol). Después de 3 min, se añadió anhídrido cíclico del ácido 1-propanofosfónico (0,255 g, 0,80 mmol). La mezcla de reacción resultante se agitó a ta durante 50 min. El análisis de CLEM mostró la formación del producto requerido. La reacción se diluyó con DCM y agua. La fase de DCM se extrajo y se lavó con salmuera, y se secó sobre sulfato sódico y se concentró. La purificación se realizó en un sistema Waters RP para obtener el producto 1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-N-(2-metoxietil)-6-metil-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida (0,045 g, 38,0 %). EN+EM m/z: 370,21. RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 2,17 - 2,28 (s, 3H) 2,40 (s, 3 H) 3,30 (s, 13 H) 3,50 (d, J = 4,52 Hz, 2 H) 3,55 (t, J = 5,18 Hz, 2 H) 3,94 (s, 3 H) 5,63 (s, 2 H) 7,74 (s, 1 H) 8,12 (s, 1 H) 8,34 (s, 1 H) 8,42 (s, 1 H) 8,78 (t, J = 5,46 Hz, 1H).

Ejemplo 12: N-(2-fluoroetil)-1-((3-metil-4-(2,2,2-trifluoroetoxi)piridin-2-il)metil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida

Véase la Figura 18(d). Se recogió ácido 1-((3-metil-4-(2,2,2-trifluoroetoxi)piridin-2-il)metil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxílico (100 mg, 0,27 mmol) en DCM (10 ml) para obtener una solución transparente. Se añadió trietilamina (0,190 ml, 1,37 mmol), seguido de la adición de una solución de anhídrido cíclico del ácido 1-propanofosfónico en

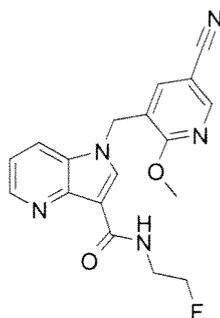
acetato de etilo (0,326 ml, 0,55 mmol) y la masa de reacción se agitó durante 5 minutos. Se añadió clorhidrato de 2-fluoroetilamina (54,5 mg, 0,55 mmol) y la masa de reacción se agitó durante 3 h. Después de la finalización de la reacción, se diluyó con DCM y después se lavó con agua y una solución de salmuera. La fase orgánica se separó, se secó, se evaporó y el compuesto en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice usando metanol y diclorometano como eluyente. Rendimiento - 49 %. EN+EM m/z: 411 (M+1). RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 2,25 (s, 3 H) 3,67 (c, J = 5,21 Hz, 1 H) 3,76 (c, J = 5,21 Hz, 1 H) 4,50 (t, J = 4,99 Hz, 1 H) 4,66 (t, J = 4,90 Hz, 1 H) 4,90 (c, J = 8,85 Hz, 2 H) 5,68 (s, 2 H) 7,06 (d, J = 5,84 Hz, 1 H) 7,24 (dd, J = 8,38, 4,62 Hz, 1 H) 7,93 (d, J = 7,35 Hz, 1 H) 8,17 (d, J = 5,65 Hz, 1 H) 8,24 (s, 1 H) 8,48 (d, J = 3,77 Hz, 1 H) 8,94 (t, J = 5,75 Hz, 1 H).

Ejemplo 13: N-(2-fluoroetil)-1-((2-metoxi-5-(trifluorometil)piridin-3-il)metil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida

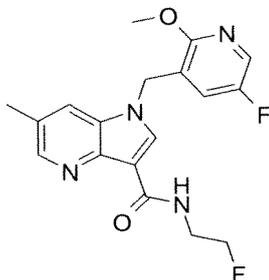


Véase la Figura 19(a). A una solución agitada de ácido 1-((2-metoxi-5-(trifluorometil)piridin-3-il)metil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxílico (60 mg, 0,177 mmol) en diclorometano (5 ml) se le añadieron clorhidrato de 2-fluoroetan-1-amina (26 mg, 0,26 mmol), trietilamina (0,053 g, 0,531 mmol) y T3P (0,33 g, 0,531 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 16 h a temperatura ambiente. Después, la mezcla de reacción se vertió en agua y se extrajo con diclorometano. La mezcla de reacción se vertió en agua y se extrajo con diclorometano. La fase orgánica combinada se lavó con agua, salmuera y el disolvente se evaporó a presión reducida. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando cromatografía en columna sobre gel de sílice para proporcionar N-(2-fluoroetil)-1-((2-metoxi-5-(trifluorometil)piridin-3-il)metil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida en forma de un sólido de color blanco. Rendimiento: 15 mg (22,3 %). EN+EM m/z: 397. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ ppm 3,66-3,70 (m, 2H), 3,72-3,76 (m, 2H), 4,00 (s, 3H), 4,50-4,52 (m, 2 H), 4,62-4,64 (m, 2 H), 5,76 (s, 2 H), 7,30-7,33 (m, 1H), 7,92 (s, 1H), 8,11 (d, 1H, J = 8,3 Hz), 8,32 (s, 1H), 8,50-8,52 (m, 1H), 8,66-8,67 (m, 1H), 8,94 (t, 1H, J = 5,6 Hz).

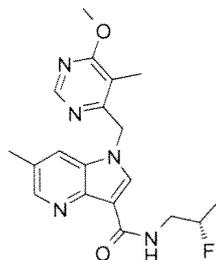
Ejemplo 14: 1-((5-ciano-2-metoxipiridin-3-il)metil)-N-(2-fluoroetil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida



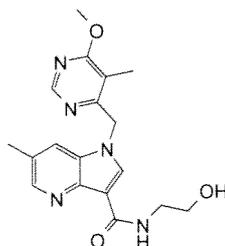
Véase la Figura 19(b). A una solución de ácido 1-((5-ciano-2-metoxipiridin-3-il)metil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxílico (0,10 gm, 0,32 mmol) en DCM, se añadieron TEA (0,098 g, 0,135 ml, 0,97 mmol), clorhidrato de 2-fluoroetan-1-amina (0,095 g, 0,97 mmol) y T3P (0,308 g, 0,97 mmol). La mezcla de reacción se agitó a TA durante 12 h. Se añadió agua a la mezcla de reacción y se extrajo con DCM. La fase orgánica combinada se lavó con agua, salmuera, se secó sobre sulfato sódico y se concentró a presión reducida. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida para proporcionar el producto de 1-((5-ciano-2-metoxipiridin-3-il)metil)-N-(2-fluoroetil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida, en forma de un sólido (17 mg, 14,9 %). EN+EM m/z: 354. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,95 (t, J = 5,80 Hz, 1H), 8,66 (d, J = 2,04 Hz, 1H), 8,51 (d, J = 4,08 Hz, 1H), 8,32 (s, 1H), 8,11 (d, J = 8,40 Hz, 1H), 7,93 (d, J = 1,92 Hz, 1H), 7,30-7,33 (m, 1H), 5,49 (s, 2 H), 5,30 (t, J = 5,00 Hz, 1H), 4,51 (t, J = 4,96 Hz, 1H), 3,91 (s, 3H), 3,72-3,76 (m, 1H), 3,66-3,70 (m, 1H).

Ejemplo 15: 1-((5-fluoro-2-metoxipiridin-3-il)metil)-N-(2-fluoroetil)-6-metil-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida

Véase la Figura 19(c). A ácido 1-((5-fluoro-2-metoxipiridin-3-il)metil)-6-metil-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxílico (60 mg, 0,19 mmol) y 2-fluoroetanamina (21,60 mg, 0,34 mmol), se les añadió TEA (0,080 ml, 0,57 mmol). Después de 3 min, se añadió anhídrido cíclico del ácido 1-propanofosfónico (151 mg, 0,48 mmol). La mezcla de reacción resultante se agitó a ta durante 50 min. El análisis de CLEM mostró la formación del producto requerido. La reacción se diluyó con DCM y agua. La fase de DCM se extrajo y se lavó con salmuera, y se secó sobre sulfato sódico y se concentró. La purificación se realizó en un sistema Waters RP para obtener el producto 1-((5-fluoro-2-metoxipiridin-3-il)metil)-N-(2-fluoroetil)-6-metil-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida (25,00 mg, 36,5 %). EN-EM m/z: 361,33. RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 2,44 (s, 3 H) 3,65 (d, J = 5,27 Hz, 1 H) 3,75 (d, J = 5,27 Hz, 1 H) 3,90 (s, 3 H) 4,49 (t, J = 4,99 Hz, 1H) 4,64 (t, J = 4,99 Hz, 1 H) 5,42 (s, 2 H) 7,36 (dd, J = 8,29, 3,01 Hz, 1 H) 7,93 (s, 1H) 8,12 (d, J = 3,01 Hz, 1 H) 8,23 (s, 1H) 8,38 (s, 5 H) 8,88 (t, J = 5,65 Hz, 1 H).

Ejemplo 16: (S)-N-(2-fluoropropil)-1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-6-metil-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida

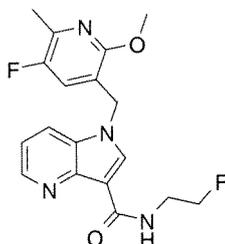
Véase la Figura 19(d). Se recogió ácido 1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-6-metil-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxílico (100 mg, 0,32 mmol) en diclorometano (10 ml) para obtener una suspensión. Se añadió trietilamina (0,133 ml, 0,96 mmol), de la adición de anhídrido cíclico del ácido 1-propanofosfónico (0,381 ml, 0,64 mmol). La masa de reacción se agitó a TA durante 5 minutos. Se añadió (R)-2-fluoropropan-1-amina (49,4 mg, 0,64 mmol) y se agitó a TA durante una noche. Después de la finalización de la reacción, la masa de reacción se diluyó con DCM, se lavó con agua y una solución de salmuera. La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico, se evaporó y el compuesto en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice. Rendimiento - 75 %. EN+EM m/z: 373,2 (M+1). RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1,25 - 1,42 (m, 4 H) 2,24 (s, 3 H) 2,40 (s, 3 H) 3,42 - 3,81 (m, 2 H) 3,94 (s, 3 H) 4,65 - 4,85 (m, 1 H) 4,93 (td, J = 6,50, 3,39 Hz, 1 H) 5,64 (s, 2 H) 7,76 (s, 1 H) 8,16 (s, 1 H) 8,29 - 8,47 (m, 2 H) 8,91 (t, J = 6,03 Hz, 1 H).

Ejemplo 17: N-(2-hidroxi-etil)-1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-6-metil-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida

Véase la Figura 20(a). Se recogió ácido 1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-6-metil-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxílico (75 mg, 0,24 mmol) en diclorometano (10 ml) para obtener una suspensión. Se añadió trietilamina (0,0669 ml, 0,48 mmol), de la adición de anhídrido cíclico del ácido 1-propanofosfónico (0,286 ml, 0,48 mmol). La masa de reacción se agitó a TA durante 5 minutos. Se añadió etanolamina (0,029 ml, 0,48 mmol) y se agitó a TA durante una noche. Después de la finalización de la reacción, la masa de reacción se diluyó con DCM, se lavó con

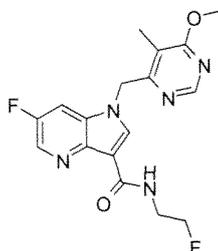
agua y una solución de salmuera. La fase de DCM se secó sobre sulfato sódico, se evaporó para obtener el compuesto en bruto, que se purificó por cromatografía en columna. Rendimiento - 52,7 %. EN+EM m/z: 356,4 (M+1). RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 2,23 (s, 3 H) 2,39 (s, 3 H) 3,39 - 3,65 (m, 4 H) 3,93 (s, 3 H) 4,84 (t, J = 5,09 Hz, 1 H) 5,63 (s, 2 H) 7,74 (s, 1 H) 8,12 (s, 1 H) 8,33 (s, 1 H) 8,41 (s, 1 H) 8,80 (t, J = 5,65 Hz, 1 H).

5 **Ejemplo 18:** 1-((5-fluoro-2-metoxi-6-metilpiridin-3-il)metil)-N-(2-fluoroetil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida



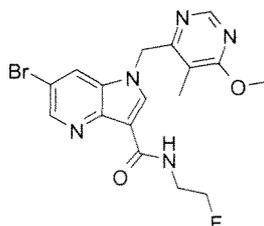
10 Véase la Figura 20(b). A la solución agitada de ácido metil 1-((5-fluoro-2-metoxi-6-metilpiridin-3-il)metil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxílico (0,15 g, 0,47 mmol) en diclorometano (10 ml), se le añadieron clorhidrato de 2-fluoroetan-1-amina (71 mg, 0,71 mmol), trietilamina (0,142 g, 1,41 mmol) y T3P (0,9 g, 1,41 mmol) y la mezcla se agitó durante 16 h a temperatura ambiente. Después, la mezcla de reacción se vertió en agua y se extrajo con diclorometano. La fase orgánica combinada se lavó con agua, salmuera, se secó sobre sulfato sódico y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice para producir 1-((5-fluoro-2-metoxi-6-metilpiridin-3-il)metil)-N-(2-fluoroetil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida en forma de un sólido de color blanco. Rendimiento: 30 mg (18 %). EN+EM m/z: 361 (M-1). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ ppm 2,31 (d, 3H, J = 2,9 Hz), 3,64-3,68 (m, 2 H), 3,71-3,75 (m, 2 H), 3,85 (s, 3H), 4,49-4,51 (m, 2 H), 4,61-4,63 (m, 2 H), 5,41 (s, 2 H), 7,28-7,32 (m, 1H), 7,45 (d, 1H, J = 9,0 Hz), 8,08-8,11 (m, 1H), 8,29 (s, 1H), 8,49-8,50 (m, 1H), 8,92 (t, 1H, J = 5,8 Hz).

20 **Ejemplo 19:** 6-fluoro-N-(2-fluoroetil)-1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida



25 Véase la Figura 20(c). A ácido 6-fluoro-1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxílico (20 mg, 0,06 mmol) y 2-fluoroetanamina (7,18 mg, 0,11 mmol), se les añadió TEA (0,026 ml, 0,19 mmol). Después de 3 min, se añadió anhídrido cíclico del ácido 1-propanofosfónico (50,3 mg, 0,16 mmol). La mezcla de reacción resultante se agitó a ta durante 50 min. El análisis de CLEM mostró la formación del producto requerido. La reacción se diluyó con DCM y agua. La fase de DCM se extrajo y se lavó con salmuera, y se secó sobre sulfato sódico y se concentró. La purificación se realizó en un sistema Waters RP para obtener el producto 6-fluoro-N-(2-fluoroetil)-1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida (20,00 mg, 88 %). EN+EM m/z: 362. RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 2,24 (s, 3H) 3,57 - 3,70 (c, 1 H) 3,70 - 3,80 (c, 1 H) 3,94 (s, 3 H) 4,43 - 4,58 (t, 1 H) 4,66 (t, J = 4,99 Hz, 1 H) 5,68 (s, 2 H) 8,03 (dd, J = 9,89, 2,54 Hz, 1 H) 8,29 (s, 6 H) 8,40 (s, 1 H) 8,53 (t, J = 2,07 Hz, 1 H) 8,71 (t, J = 5,84 Hz, 1 H).

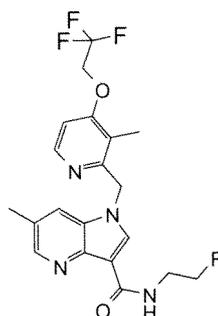
30 **Ejemplo 20:** 6-bromo-N-(2-fluoroetil)-1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida



35

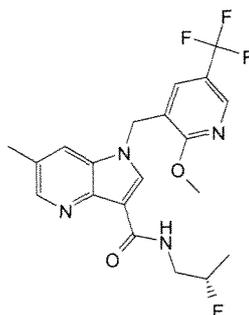
Véase la Figura 20(d). A una solución agitada de ácido 6-bromo-1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxílico (0,13 g, 0,34 mmol) en diclorometano (10 ml), se le añadieron 2-fluoroetan-1-amina (0,06 g, 0,68 mmol), trietilamina (0,1 g, 1,02 mmol) y T3P (0,32 g, 1,02 mmol) y la mezcla se agitó a TA durante 16 h. Después, la mezcla de reacción se vertió en agua y se extrajo con diclorometano. La fase orgánica se lavó con salmuera y se concentró. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice y posteriormente purificación PREP para proporcionar 6-bromo-N-(2-fluoroetil)-1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida en forma de un sólido de color blanco. Rendimiento: 25 mg (17%). EN+EM m/z: 424,2 (M+1). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ ppm 2,24 (s, 3H), 3,68 (s a, 1H), 3,75 (s a, 1H), 4,51 (s a, 1H), 4,64 (s a, 1H), 5,70 (s, 2H), 8,28 (s, 1H), 8,39 (d, 1H, *J* = 10,9 Hz), 8,58 (s, 1H), 8,64 (s a, 2H).

10 **Ejemplo 21: N-(Z-fluoroetil)-6-metil-1-((3-metil-4-(2,2,2-trifluoroetoxi)piridin-2-il)metil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida**

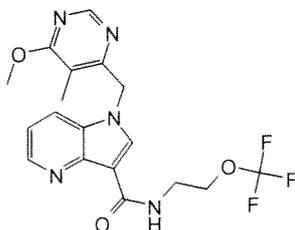


Véase la Figura 21(a). Se recogió ácido 6-metil-1-((3-metil-4-(2,2,2-trifluoroetoxi)piridin-2-il)metil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxílico (111 mg, 0,29 mmol) en diclorometano (10 ml). Se añadió trietilamina (0,204 ml, 1,46 mmol) para obtener una solución transparente. Se añadió anhídrido cíclico del ácido 1-propanofosfónico (0,348 ml, 0,59 mmol) y se agitó a TA durante 5 minutos. Se añadió clorhidrato de 2-fluoroetilamina (87 mg, 0,88 mmol) y se agitó a TA durante una noche. Después de la finalización de la reacción, la masa de reacción se diluyó con diclorometano, se lavó con agua, y una solución de salmuera. La fase orgánica se separó, se secó sobre sulfato sódico, se evaporó para obtener el compuesto en bruto. El compuesto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice usando metanol y diclorometano como eluyente. Rendimiento - 44,3%. EN+EM m/z: 425,2 (M+1). RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 2,24 (s, 3 H) 2,39 (s, 3 H) 3,66 (c, *J* = 5,21 Hz, 1 H) 3,75 (c, *J* = 5,15 Hz, 1 H) 4,49 (t, *J* = 4,99 Hz, 1 H) 4,65 (t, *J* = 4,99 Hz, 1 H) 4,90 (c, *J* = 8,85 Hz, 2 H) 5,63 (s, 2 H) 7,07 (d, *J* = 5,65 Hz, 1 H) 7,76 (s, 1 H) 8,11 (s, 1 H) 8,17 (d, *J* = 5,65 Hz, 1 H) 8,34 (s, 1 H) 8,88 (t, *J* = 5,84 Hz, 1 H).

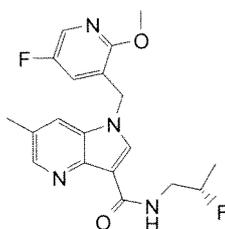
25 **Ejemplo 22: (S)-N-(2-fluoropropil)-1-((2-metoxi-5-(trifluorometil)piridin-3-il)metil)-6-metil-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida**



Véase la Figura 21(b). En un vial térmico de 25 ml se cargó ácido 1-((2-metoxi-5-(trifluorometil)piridin-3-il)metil)-6-metil-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxílico (100 mg, 0,27 mmol) y HATU (125 mg, 0,33 mmol), que se recogieron en NMP (4 ml) y se agitaron durante 10 min a ta. Después, se añadieron clorhidrato de (S)-2-fluoropropan-1-amina (37,3 mg, 0,33 mmol) y trietilamina (0,114 ml, 0,82 mmol) y se agitaron durante 1 h a TA. La CLEM mostró la finalización de la reacción. La mezcla de reacción se vertió en agua y se extrajo con cloroformo. La fase orgánica se secó y se concentró, y el material en bruto se sometió a purificación de fase inversa. Las fracciones puras se concentraron para obtener (S)-N-(2-fluoropropil)-1-((2-metoxi-5-(trifluorometil)piridin-3-il)metil)-6-metil-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida (82 mg, 70,6 %) en forma de un sólido. EN+EM m/z: 425 (M+1). RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 1,15 - 1,44 (m, 3 H) 2,44 (s, 3 H) 3,39 - 3,79 (m, 2 H) 3,98 (s, 3 H) 4,75 (td, *J* = 6,50, 3,39 Hz, 1 H) 4,92 (td, *J* = 6,50, 3,20 Hz, 1 H) 5,48 (s, 2 H) 7,81 (d, *J* = 2,26 Hz, 1 H) 7,91 - 8,03 (m, 1 H) 8,25 (s, 1 H) 8,34 - 8,42 (m, 1 H) 8,53 - 8,62 (m, 1 H) 8,90 (t, *J* = 5,93 Hz, 1 H).

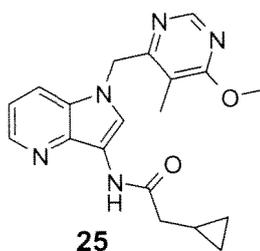
Ejemplo 23: 1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-N-(2-(trifluorometoxi)etil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida

Véase la Figura 21(c). Se recogió ácido 1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxílico (40 mg, 0,13 mmol) en un matraz de una sola boca de 50ml, equipado con un condensador de aire conectado a una fuente de nitrógeno. Se añadió NMP (3 ml, 31,17 mmol) para obtener una solución. Se añadió trietilamina (0,056 ml, 0,40 mmol), seguido de la adición de clorhidrato de 2-(trifluorometoxi)etanamina (44,4 mg, 0,27 mmol). La masa de reacción se agitó a TA durante 5 minutos. Se añadió HATU (61,2 mg, 0,16 mmol) y se agitó a TA durante 30 min. Después de la finalización de la reacción, se añadieron unas pocas gotas de metanol y la solución transparente se sometió a purificación de HPLC de fase inversa para obtener 1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-N-(2-(trifluorometoxi)etil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida (15,00 mg, 27,3 %). EN+EM m/z: 410 (M+1). RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 2,25 (s, 3 H) 3,68 - 3,80 (m, 2 H) 3,93 (s, 3 H) 4,24 (t, J = 5,27 Hz, 2 H) 5,69 (s, 2 H) 7,26 (dd, J = 8,29, 4,71 Hz, 1 H) 7,94 (d, J = 7,35 Hz, 1 H) 8,28 (s, 1 H) 8,38 - 8,54 (m, 2 H) 8,96 (s, 1 H).

Ejemplo 24: (S)-1-((5-fluoro-2-metoxipiridin-3-il)metil)-N-(2-fluoropropil)-6-metil-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida

Véase la Figura 21(d). Se recogió ácido 1-((5-fluoro-2-metoxipiridin-3-il)metil)-6-metil-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxílico (147 mg, 0,47 mmol) en un matraz de una sola boca de 50 ml, equipado con un condensador de aire conectado a una fuente de nitrógeno. Se añadió NMP (3 ml, 31,17 mmol) para obtener una suspensión. Se añadió HATU (213 mg, 0,56 mmol), seguido de la adición de (S)-2-fluoropropan-1-amina (71,9 mg, 0,93 mmol). La masa de reacción se agitó a TA durante 5 minutos. Se añadió trietilamina (0,195 ml, 1,40 mmol) y se agitó a TA durante 10 minutos.

Después de la finalización de la reacción, se añadió agua y se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico, se evaporó para obtener el compuesto en bruto. El compuesto en bruto se purificó por HPLC prep. de Gilson para obtener (S)-1-((5-fluoro-2-metoxipiridin-3-il)metil)-N-(2-fluoropropil)-6-metil-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida (110 mg, 63,0 %). EN+EM m/z: 375 (M+1). RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 1,24 - 1,37 (m, 3 H) 2,44 (s, 3 H) 3,47 (s, 1 H) 3,64 (s a, 1 H) 3,75 (s, 1 H) 3,90 (s, 3 H) 4,76 (s a, 1 H) 5,42 (s, 2 H) 7,38 (s, 1 H) 7,93 (s, 1 H) 8,12 (d, J = 3,01 Hz, 1 H) 8,23 (s, 1 H) 8,38 (s, 1 H) 8,90 (s, 1 H).

Ejemplo 25: 2-ciclopropil-N-(1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-il)acetamida

Véase la Figura 22.

3-Nitro-1H-pirrolo[3,2-b]piridina (25b): A una solución del compuesto 1 (5 g, 0,042 moles) en H₂SO₄ con. (50 ml), se le añadió HNO₃ con. (3 ml, 0,063 mol) a -10 °C. La mezcla de reacción se agitó a esta temperatura durante 5 h. Después, la mezcla se vertió en agua enfriada con hielo (100 ml), se neutralizó con NaOH ac. (10 %) y se extrajo con acetato de etilo (2 x 100 ml). La fase orgánica combinada se lavó con salmuera y el disolvente se evaporó a

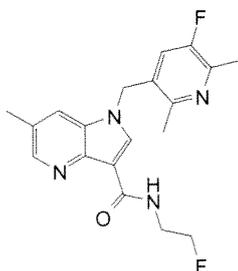
presión reducida para producir 3-nitro-1H-pirrolo[3,2-b]piridina (**25b**) 3 g (43,4 %).

1-((6-Metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-3-nitro-1H-pirrolo[3,2-b]piridina (**25c**): A una suspensión agitada de 3-nitro-1H-pirrolo[3,2-b]piridina (**25b**) (0,5 g, 3,04 mmol) y K_2CO_3 (0,5 g, 9,12 mmol) en DMF (10 ml) se le añadió 4-(clorometil)-6-metoxi-5-metilpirimidina (0,7 g, 6,09 mmol) y la mezcla resultante se agitó durante 16 h a temperatura ambiente. Después, la mezcla de reacción se vertió en agua (50 ml) y se extrajo con diclorometano (2 x 50 ml). La fase orgánica combinada se lavó con salmuera y el disolvente se evaporó a presión reducida para producir 1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-3-nitro-1H-pirrolo[3,2-b]piridina (**25c**) [300 mg (33 %)] en forma de un sólido de color amarillo pálido.

1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-amina (**25d**): A una solución de 1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-3-nitro-1H-pirrolo[3,2-b]piridina (0,15 g, 0,58 mmol) en etanol (5 ml) se le añadió Pd/C (0,03 g). La mezcla de reacción se hidrogenó a una presión de globo durante 16 h a TA. El disolvente se filtró y se evaporó a presión reducida para producir 1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-amina (**25d**) 0,1 g (74 %).

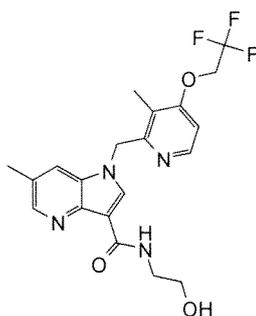
2-ciclopropil-N-(1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-il)acetamida: A una solución agitada de 1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-amina (**25d**) (0,1 g, 0,37 mmol) en diclorometano (10 ml) se añadieron trietilamina (0,15 ml, 1,11 mmol), T3P (0,35 g, 1,11 mmol) y ácido 2-ciclopropilacético (0,037 g, 0,37 mmol) y la mezcla se agitó durante 16 h a temperatura ambiente. Después, la mezcla de reacción se vertió en agua (20 ml) y se extrajo con diclorometano (2 x 50 ml). La fase orgánica combinada se lavó con salmuera y el disolvente se evaporó a presión reducida. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando acetato de etilo al 50 % en hexano para proporcionar 2-ciclopropil-N-(1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-il)acetamida en forma de un sólido de color blanquecino; rendimiento: 25 mg (19%). EN+EM m/z: 352 (M+1). RMN 1H (400 MHz, $DMSO-d_6$): δ ppm 2,25 (s, 3H), 3,67-3,69 (m, 1H), 3,73-3,76 (m, 1H), 4,50-4,52 (m, 1H), 4,62-4,64 (m, 1H), 5,49 (s, 2 H), 6,94-6,96 (m, 3H), 7,27-7,30 (m, 1H), 8,08 (d, J = 8,2 Hz), 8,45 (s, 1H), 8,50 (d, J = 3,88 Hz), 8,92 (t, J = 5,6 Hz).

Ejemplo 26: 1-((5-fluoro-2,6-dimetilpiridin-3-il)metil)-N-(2-fluoroetil)-6-metil-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida



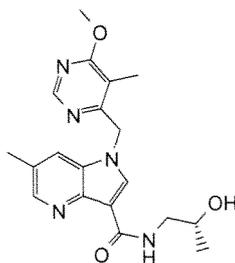
Véase la Figura 23(a). En un vial térmico de 25 ml se cargó ácido 1-((5-fluoro-2,6-dimetilpiridin-3-il)metil)-6-metil-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxílico (100 mg, 0,32 mmol) y HATU (146 mg, 0,38 mmol), que se recogieron en NMP (4 ml) y se agitaron durante 10 min a ta. Después, se añadieron 2-fluoroetanamina (20,13 mg, 0,32 mmol) y trietilamina (133 ml, 0,96 mmol) y se agitaron durante 1 h a ta. La CLEM mostró la finalización de la reacción. La mezcla de reacción se vertió en agua y se extrajo con cloroformo. La fase orgánica se secó y se concentró, y el material en bruto se sometió a purificación de fase inversa. Las fracciones puras se concentraron para obtener 1-((5-fluoro-2,6-dimetilpiridin-3-il)metil)-N-(2-fluoroetil)-6-metil-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida (75 mg, 65,6 %) en forma de un sólido. EN+EM m/z: 359 (M+1). RMN 1H (300 MHz, $DMSO-d_6$) δ ppm 2,37 (d, J = 2,64 Hz, 3 H) 2,42 (s, 6 H) 3,66 (d, J = 5,46 Hz, 1 H) 3,75 (d, J = 5,27 Hz, 1 H) 4,49 (t, J = 4,90 Hz, 1 H) 4,65 (t, J = 4,99 Hz, 1 H) 5,52 (s, 2 H) 6,85 (d, J = 10,17 Hz, 1 H) 7,86 (s, 1 H) 8,15 (s, 1 H) 8,34 - 8,46 (m, 1 H) 8,89 (t, J = 5,84 Hz, 1 H).

Ejemplo 27: N-(2-hidroxi-etil)-6-metil-1-((3-metil-4-(2,2,2-trifluoroetoxi) piridin-2-il)metil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida



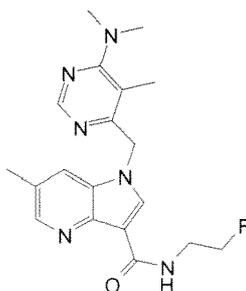
Véase la Figura 23(b). Se recogieron ácido 6-metil-1-((3-metil-4-(2,2,2-trifluoroetoxi)piridin-2-il)metil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxílico (55 mg, 0,14 mmol) y NMP (13,95 μ l, 0,14 mmol) en un matraz de una sola boca de 50 ml, equipado con un condensador de aire acoplado a una fuente de nitrógeno. Se añadió HATU (66,2 mg, 0,17 mmol) para obtener una suspensión. Se añadió etanolamina (17,50 μ l, 0,29 mmol), seguido de la adición de trietilamina (60,6 μ l, 0,43 mmol). La masa de reacción se agitó a TA durante 5 minutos. La CLEM mostró la finalización de la reacción. El compuesto en bruto se purificó por HPLC prep. de Gilson para obtener N-(2-hidroxi-etil)-6-metil-1-((3-metil-4-(2,2,2-trifluoroetoxi)piridin-2-il)metil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida pura (15,00 mg, 24,49 %). EN+EM m/z: 423 (M+1). RMN 1 H (300 MHz, DMSO-*d*6) δ ppm 2,23 (s, 3 H) 2,39 (s, 3 H) 3,45 (s a, 2H) 3,53 (s a, 2 H) 4,83 (s, 1 H) 4,90 (d, J = 9,04 Hz, 2 H) 5,62 (s, 2 H) 7,06 (d, J=5,65 Hz, 1 H) 7,75 (s, 1 H) 8,07 (s, 1 H) 8,17 (d, J = 5,09 Hz, 1 H) 8,32 (s, 1H) 8,79 (s, 1 H).

Ejemplo 28: (R)-N-(2-hidroxi-propil)-1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-6-metil-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida

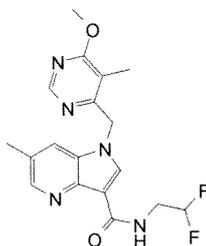


Véase la Figura 23(c). Se recogió ácido 1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-6-metil-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxílico (75 mg, 0,24 mmol) en un reactor térmico. Se añadió DCM (5 ml) para obtener una suspensión. Se añadió trietilamina (0,067 ml, 0,48 mmol), de la adición de anhídrido cíclico del ácido 1-propanofosfónico (0,286 ml, 0,48 mmol). Se añadió (R)-1-aminopropan-2-ol (36,1 mg, 0,48 mmol) y se agitó a TA durante una noche. Después de la finalización de la reacción, la mezcla de reacción se concentró y se disolvió en DCM:MeOH. Este compuesto en bruto se sometió a purificación de fase inversa para obtener (R)-N-(2-hidroxi-propil)-1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-6-metil-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida (35,0 mg, 39,5 %) en forma de un sólido de color blanquecino. EN+EM m/z: 370 (M+1). RMN 1 H (300 MHz, DMSO-*d*6) δ ppm 1,10 (d, J = 5,84 Hz, 3 H) 2,24 (s, 3 H) 2,39 (s, 3 H) 3,16 - 3,29 (m, 1 H) 3,37 - 3,48 (m, 1 H) 3,77 (s a, 1H) 3,93 (s, 3 H) 4,85 (d, J = 4,33 Hz, 1 H) 5,63 (s, 2 H) 7,74 (s, 1 H) 8,12 (s, 1 H) 8,33 (s, 1 H) 8,41 (s, 1 H) 8,82 (s a, 1 H).

Ejemplo 29: 1-((6-(dimetilamino)-5-metilpirimidin-4-il)metil)-N-(2-fluoroetil)-6-metil-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida

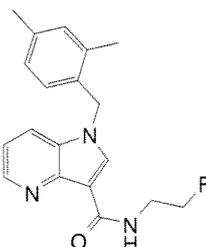


Véase la Figura 23(d). Se recogió ácido 1-((6-(dimetilamino)-5-metilpirimidin-4-il)metil)-6-metil-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxílico (75 mg, 0,23 mmol) en un reactor térmico. Se añadió DCM (5 ml) para obtener una suspensión. Se añadió trietilamina (0,064 ml, 0,46 mmol), seguido de la adición de anhídrido cíclico del ácido 1-propanofosfónico (0,274 ml, 0,46 mmol). Se añadió clorhidrato de 2-fluoroetanamina (22,94 mg, 0,23 mmol) y se agitó a TA durante una noche. Después de la finalización de la reacción, la mezcla de reacción se concentró y se disolvió en DCM:MeOH. Este compuesto en bruto se sometió a purificación de fase inversa. Se obtuvo el compuesto final, 1-((6-(dimetilamino)-5-metilpirimidin-4-il)metil)-N-(2-fluoroetil)-6-metil-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida (12,00 mg, 14,05 %), en forma de un sólido de color blanco. EN+EM m/z: 371 (M+1). RMN 1 H (300 MHz, DMSO-*d*6) δ ppm 2,27 (s, 3 H) 2,40 (s, 3 H) 2,95 (s, 6 H) 3,66 (d, J = 5,46 Hz, 1 H) 3,75 (d, J = 5,27 Hz, 1 H) 4,49 (t, J = 4,99 Hz, 1 H) 4,65 (t, J = 4,99 Hz, 1 H) 5,54 (s, 2 H) 7,75 (s, 1 H) 8,13 (s, 1 H) 8,22 (s, 1 H) 8,34 (s, 1 H) 8,88 (t, J = 5,84 Hz, 1 H).

Ejemplo 30: N-(2,2-difluoroetil)-1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-6-metil-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida

5 Véase la Figura 24(a). Se recogió ácido 1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-6-metil-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxílico (100 mg, 0,32 mmol) en un reactor térmico. Se añadió DCM (3 ml) para obtener una suspensión. Se añadió trietilamina (0,089 ml, 0,64 mmol), seguido de la adición de anhídrido cíclico del ácido 1-propanofosfónico (0,381 ml, 0,64 mmol). Se añadió 2,2-difluoroetanamina (26,0 mg, 0,32 mmol) y se agitó a TA durante una noche. Después de la finalización de la reacción, la mezcla de reacción se concentró y se disolvió en DCM:MeOH. Este compuesto en bruto se sometió a purificación de fase inversa para obtener N-(2,2-difluoroetil)-1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-6-metil-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida (20,00 mg, 16,64 %) en forma de un sólido de color blanquecino. EN+EM m/z: 376 (M+1). RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 2,24 (s, 4 H) 2,40 (s, 3H) 3,77 - 3,89 (m, 2 H) 3,93 (s, 4 H) 5,65 (s, 2 H) 7,77 (s, 1 H) 8,20 (s, 1 H) 8,40 (s, 1 H) 8,36 (s, 1 H) 8,91 (s a, 1 H).

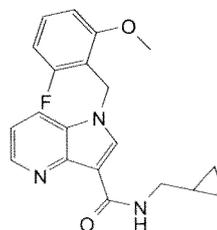
10

Ejemplo 31: 1-(2,4-dimetilbencil)-N-(2-fluoroetil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida

15 Véase la Figura 24(b). Se recogió ácido 1-(2,4-dimetilbencil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxílico (200 mg, 0,71 mmol) en un matraz de una sola boca de 100 ml, equipado con un condensador de aire conectado a una fuente de nitrógeno. Se añadió CH₂Cl₂ (10 ml) para obtener una solución transparente. Se añadió trietilamina (5 ml, 35,87 mmol), seguido de la adición de anhídrido cíclico del ácido 1-propilfosfónico (2 ml, 1,43 mmol) y clorhidrato de 2-fluoroetilamina (142 mg, 1,43 mmol). La masa de reacción se agitó a TA durante una noche. Este compuesto en bruto se sometió a purificación de fase inversa para obtener 1-(2,4-dimetilbencil)-N-(2-fluoroetil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida (50,00 mg, 22 %) en forma de un sólido de color blanquecino. EN+EM m/z: 326 (M+1). RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 2,21 (s, 3 H) 2,24 (s, 3 H) 3,57 - 3,86 (m, 2 H) 4,50 (t, J = 4,99 Hz, 1 H) 4,66 (t, J = 4,99 Hz, 1 H) 5,41 - 5,60 (m, 2 H) 6,72 (d, J = 7,72 Hz, 1 H) 6,94 (d, J = 7,54 Hz, 1 H) 7,05 (s, 1 H) 7,28 (dd, J = 8,29, 4,71 Hz, 1 H) 7,98 (dd, J = 8,38, 1,04 Hz, 1 H) 8,13 (s, 1 H) 8,51 (dd, J = 4,62, 1,04 Hz, 1 H) 8,94 (t, J = 5,84 Hz, 1 H).

20

25

Ejemplo 32: N-(ciclopropilmetil)-1-(2-fluoro-6-metoxibencil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida

30 Véase la Figura 24(c). En un matraz de fondo redondo de 50 ml se recogieron ácido 1-(2-fluoro-6-metoxibencil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxílico (0,130 g, 0,43 mmol), ciclopropilmetanamina (0,040 g, 0,56 mmol) y TEA (0,181 ml, 1,30 mmol) en DCM (10 ml) en una atmósfera de N₂. Es esto se le añadió anhídrido cíclico del ácido 1-propanofosfónico (0,317 g, 1,00 mmol). La reacción resultante se agitó a TA durante 50 min. El análisis de CLEM mostró la formación del producto requerido. La reacción se diluyó con DCM y agua. La fase de DCM se extrajo y se lavó con salmuera, y se secó sobre sulfato sódico y se concentró. La purificación se realizó en un sistema Waters RP para obtener el producto N-(ciclopropilmetil)-1-(2-fluoro-6-metoxibencil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida (0,060 g, 39,2 %) en forma de un sólido de color blanquecino. EN+EM m/z: 354 (M+1). RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0,24 (c, J = 4,90 Hz, 2 H) 0,38 - 0,50 (m, 2 H) 1,03 (t, J = 7,06 Hz, 1H) 3,25 (t, J = 6,22 Hz, 2 H) 3,88 (s, 3 H) 5,47 (s, 2 H) 6,83 - 6,99 (m, 2 H) 7,26 -

35

7,46 (m, 2 H) 8,02 (s, 1H) 8,07 (d, J = 8,10 Hz, 1 H) 8,49 (d, J = 3,96 Hz, 1 H) 8,75 (t, J = 5,65 Hz, 1 H).

Ejemplo 33: N-(2,2-difluoroetil)-1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-6-metil-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida

EN+EM m/z: 376

5 RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*6) δ ppm 2,18-2,31 (m, 3 H) 2,40(s, 3H) 3,84 - 3,97 (m, 5 H) 5,62 - 5,70 (m, 2 H) 6,01-6,22 (tt, 1H) 7,78 (s, 1 H) 8,20 (s, 1 H) 8,38-8,41 (d, J = 14,51 Hz, 2 H) 8,87 - 8,96 (m, 1 H).

Ejemplo 34: 1-((6-(dimetilamino)-5-metilpirimidin-4-il)metil)-N-(2-hidroxi etil)-6-metil-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida

EN+EM m/z: 369

10 RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*6) δ ppm 2,27 (s, 3 H) 2,40 (s, 3 H) 2,95 (s, 6 H) 3,41 - 3,58 (m, 4 H) 4,84 (t, J = 4,99 Hz, 1 H) 5,53 (s, 2 H) 7,73 (s, 1 H) 8,10 (s, 1 H) 8,22 (s, 1 H) 8,33 (s, 1 H) 8,80 (t, J = 5,46 Hz, 1 H).

Ejemplo 35: 1-((6-(Difluorometoxi)-5-metilpirimidin-4-il)metil)-N-(2-hidroxietil)-6-metil-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida

EN+EM m/z: 392

15 RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*6) δ ppm 2,32 (s, 3H), 2,40 (s, 3H), 3,46 (d, J = 5,6 Hz, 2H), 3,56 (d, J = 5,1 Hz, 2H), 5,75 (s, 2 H), 4,83 (s a, 1H), 8,02 - 7,53 (m, 2H), 8,21 - 8,04 (m, 1H), 8,35 (s, 1H), 8,52 (s, 1H), 8,81 (s a, 1H).

Ejemplo 36: N-(2-fluoroetil)-6-metoxi-1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida

EN+EM m/z: 374

20 RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*6) δ ppm 2,14 - 2,32 (m, 3 H) 3,64 - 3,86 (m, 5 H) 3,94 (s, 3 H) 4,49 (t, J = 4,99 Hz, 1 H) 4,65 (t, J = 4,90 Hz, 1 H) 5,64 (s, 2 H) 7,63 (d, J = 2,45 Hz, 1 H) 8,07 (s, 1 H) 8,26 (d, J = 2,45 Hz, 1 H) 8,43 (s, 1 H) 8,76 (t, J = 5,93 Hz, 1 H).

Ejemplo 37: N-(2,2-difluoroetil)-6-metoxi-1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida

25 EN+EM m/z: 392

RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*6) δ ppm 2,18 - 2,31 (m, 3H) 3,77 - 3,97 (m, 8 H) 5,62 - 5,69 (m, 2 H) 6,00-6,38(tt, 1H) 7,64 (d, J = 2,45 Hz, 1 H) 8,11 (s, 1 H) 8,27 (d, J = 2,45 Hz, 1 H) 8,43 (s, 1 H) 8,74 - 8,84 (m, 1 H).

Ejemplo 38: N-(2-hidroxietil)-6-metoxi-1-((6-metoxi-5-metilpirimidin-4-il)metil)-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida

30 EN+EM m/z: 372

RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*6) δ ppm 2,23 (s, 3 H) 3,31 - 3,43 (m, 4 H) 3,81 (s, 3 H) 3,94 (s, 3 H) 4,83 (t, J = 4,99 Hz, 1 H) 5,63 (s, 2 H) 7,61 (d, J = 2,45 Hz, 1 H) 8,03 (s, 1 H) 8,25 (d, J = 2,45 Hz, 1 H) 8,43 (s, 1 H) 8,64 - 8,74 (m, 1 H).

Ejemplo 39: 1-((6-(Dimetilamino)-5-metilpirimidin-4-il)metil)-N-(2-fluoroetil)-6-metoxi-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida

35 EN+EM m/z: 387

RMN ¹H (400MHz, DMSO-*d*6) δ ppm 2,28 (s, 3H), 2,96 (s, 6H), 3,67 (c, J = 5,2 Hz, 1H), 3,74 (c, J = 5,4 Hz, 1H), 3,83 (s, 3H), 4,51 (t, J = 5,0 Hz, 1H), 4,63 (t, J = 5,0 Hz, 1H), 5,55 (s, 2 H), 7,62 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 8,05 (s, 1H), 8,27 - 8,25 (m, 2H), 8,77 (t, J = 6,0 Hz, 1H).

Ejemplo 40: N-(2,2-Difluoroetil)-1-((6-(dimetilamino)-5-metilpirimidin-4-il)metil)-6-metoxi-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida

40 EN+EM m/z: 405

RMN ¹H (400MHz, DMSO-*d*6) δ ppm 2,27 (s, 3H), 2,95 (s, 6H), 4,00 - 3,84 (m, 5H), 5,55 (s, 2 H), 6,32 - 6,04 (m, 1H), 7,62 (d, J = 2,3 Hz, 1H), 8,08 (s, 1H), 8,27 - 8,24 (m, 2H), 8,79 (t, J = 6,0 Hz, 1H).

Ejemplo 41: 1-((6-(Dimetilamino)-5-metilpirimidin-4-il)metil)-N-(2-hidroxietil)-6-metoxi-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-3-carboxamida

45 EN+EM m/z: 385

RMN ¹H (400MHz, DMSO-*d*6) δ ppm 2,28 (s, 3H), 2,96 (s, 6H), 3,46 - 3,43 (m, 2H), 3,55-3,54 (m, 2 H), 3,82 (s, 3H), 4,82 (s a, 1H), 5,54 (s, 2 H), 7,60 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 8,01 (s, 1H), 8,37 - 8,17 (m, 2H), 8,69 (t, J = 5,7 Hz, 1H).

Ejemplo 42: 1-((6-(Difluorometoxi)-5-metilpirimidin-4-il)metil)-N-(2-fluoroetil)-6-metoxi-1H-pirrol[3,2-b]piridin-3-carboxamida

EN+EM m/z: 410

5 RMN ¹H (400MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 2,31 (s, 3H), 3,68-3,67 (m, 1H), 3,77 - 3,71 (m, 1 H), 3,82 (s, 3H), 4,52 (t, J = 4,9 Hz, 1H), 4,64 (t, J = 4,9 Hz, 1H), 5,75 (s, 2 H), 7,99-7,63 (m, 2 H), 8,09 (s, 1 H), 8,27 (d, J = 2,2 Hz, 1H), 8,54 (s, 1H), 8,78 (t, J = 5,7 Hz, 1H).

Ejemplo 43: N-(2,2-Difluoroetil)-1-((6-(difluorometoxi)-5-metilpirimidin-4-il)metil)-6-metoxi-1H-pirrol[3,2-b]piridin-3-carboxamida

EN+EM m/z: 428

10 RMN ¹H (400MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 2,32 (s, 3H), 3,90 - 3,82 (m, 5H), 5,76 (s, 2 H), 6,34 - 6,05 (m, 1H), 7,99-7,63 (m, 2 H), 8,13 (s, 1H), 8,29 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 8,81 (t, J = 6,2 Hz, 1H), 8,54 (s, 1H), 8,81 (t, J = 6,2 Hz, 1 H).

Ejemplo 44: 1-((6-(difluorometoxi)-5-metilpirimidin-4-il)metil)-N-(2-hidroxietil)-6-metoxi-1H-pirrol[3,2-b]piridin-3-carboxamida

EN+EM m/z: 408

15 RMN ¹H (400MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 2,30 (s, 3H), 3,46 - 3,42 (m, 2H), 3,56 - 3,52 (m, 2H), 3,82 (s, 3H), 4,81 (t, J = 5,0 Hz, 1H), 5,73 (s, 2 H), 7,97-7,61 (m, 2 H), 8,04 (s, 1H), 8,25 (d, J = 2,3 Hz, 1H), 8,53 (s, 1H), 8,69 (t, J = 5,6 Hz, 1H).

Ejemplo 45: 1-((3,5-dimetilpirazin-2-il)metil)-N-(2-fluoroetil)-6-metil-1H-pirrol[3,2-b]piridin-3-carboxamida

EN+EM m/z: 342

20 RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 2,40 (d, J = 0,94 Hz, 6 H) 2,58 (s, 4 H) 3,63 - 3,70 (m, 1 H) 3,75 (c, J = 5,53 Hz, 1 H) 4,49 (t, J = 4,99 Hz, 1 H) 4,65 (t, J = 5,18 Hz, 1 H) 5,67 (s, 2 H) 7,75 - 7,79 (m, 1 H) 8,12 - 8,17 (m, 2 H) 8,33 - 8,37 (m, 1 H) 8,87 (t, J = 5,93 Hz, 1 H).

Ejemplo 46: N-(2,2-difluoroetil)-1-((3,5-dimetilpirazin-2-il)metil)-6-metil-1H-pirrol[3,2-b]piridin-3-carboxamida

EN+EM m/z: 360

25 RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 2,39 (s, 6 H) 2,58 (s, 3 H) 3,76 - 3,95 (m, 2 H) 5,68 (s, 2 H) 5,98 - 6,05 (m, 1 H) 6,15 - 6,22 (m, 1 H) 6,35 - 6,40 (m, 1H) 7,78 (s, 1 H) 8,14 (s, 1 H) 8,19 (s, 1 H) 8,36 (s, 1 H) 8,85 - 8,97 (m, 1 H).

Concentración inhibidora mínima (CIM) y concentración bactericida mínima (CBM)

30 La cepa H37Rv de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) "ATCC 27294" utilizada para la determinación de la CIM se cultivó como se informó en Jayaram y col., (2003). El inóculo utilizado para todos los excipientes se obtuvo de una única serie de molécula inicial que se había mantenido a -70 °C. Brevemente, la Mtb se cultivó en botes con rodillo a 37 °C durante 7 a 10 días en un caldo Middlebrook 7H9 suplementado con 0,2 % de glicerol, 0,05 % de Tween 80 (Sigma) y 10 % de albúmina-dextrosa-catalasa (Difco Laboratories, Detroit, Michigan); denominado como "caldo 7H9" en el resto del documento. Las células se obtuvieron por centrifugación, se lavaron dos veces en caldo 7H9 y se resuspendieron en caldo 7H9 reciente. Se dispensaron 0,5 ml de partes alícuotas y las suspensiones de la serie de molécula inicial se almacenaron a -70 °C. Tras 24 horas a -70 °C, se descongeló uno de los viales y se colocó en una placa para el recuento de la unidad formadora de colonias (UFC). Todas las existencias del compuesto de prueba y las diluciones se prepararon en DMSO.

40 La CIM de la Mtb de los compuestos de prueba se determinó en el caldo 7H9 mediante un procedimiento de microdilución estándar (Balganesh y col., 2010) con algunas modificaciones. Brevemente, se colocó 1 µl de diluciones dobles en serie del compuesto de prueba en una placa de 384 pocillos, oscilando las concentraciones finales de 100 µM a 0,19 µM. Los pocillos de control incluían controles de medios y cultivos. Se añadieron 40 µl (3-7 x 10⁵ de UFC/ml) del cultivo bacteriano a todos los pocillos, exceptuando los pocillos de control de medios. Las placas se envasaron en bolsas de polietileno permeables al gas y se incubaron a 37 °C durante 5 días. Después de este período de incubación, se añadieron 8 µl de una mezcla recién preparada de 1:1 de resazurina (0,02 % en agua), y 10 % de Tween 80 en todos los pocillos. Las placas volvieron a incubarse durante 24 horas adicionales a 37 °C y se registró la conversión de color de todos los pocillos. El color azul en un pocillo se interpretó como una situación de no crecimiento, y el color rosa se marcó como crecimiento. La concentración inhibidora mínima (CIM) se definió como la mínima concentración de fármaco que prevenía el cambio de color de azul a rosa. Se monitorizó la absorbencia a 575 nm y 610 nm y se calculó su relación. La menor concentración que produjo un 80 % de inhibición fue la que se consideró como CIM. La isoniazida se utilizó como fármaco de referencia para este ensayo.

50 Se diluyeron partes alícuotas de los pocillos de muestras (CIM y mayores) de las placas de CIM a 1:10 y se colocaron en placas de agar 7H10. Las placas se incubaron a 37 °C durante 3-4 semanas y se contó la UFC. La menor concentración de compuesto que derivó en una reducción de dos log₁₀ de UFC desde la UFC inicial fue la que se consideró como la CBM.

CIM de las cepas aisladas de la *M. tuberculosis* sensible a los fármacos y monorresistente

Este ensayo se llevó a cabo utilizando el mismo protocolo que anteriormente, sin embargo, el periodo de incubación se extendió a 2-3 semanas. Se monitorizó el crecimiento celular turbidométricamente, y se identificó la menor concentración que no mostraba ningún crecimiento como la CIM. Con las cepas monorresistentes, el respectivo fármaco marcador de la resistencia se incluyó como el control positivo.

Procedimiento mediante la determinación de la CIM de otras bacterias (gram positivas y gram negativas):

Se determinaron los valores de CIM de las diferentes cepas bacterianas (*Staphylococcus aureus* ARC517, *Streptococcus pneumoniae* ARC548, *Haemophilus influenzae* ARC446, *Haemophilus influenzae* ARC158, *Escherichia coli* ARC523, *Escherichia coli* ARC524, *Pseudomonas aeruginosa* ARC545, *P. aeruginosa* ARC546, *Klebsiella pneumoniae* ARC 1865, *Mycobacterium smegmatis* (Msm) ATCC607, Msm mc²155 y *Candida albicans* ARC526 según las normas del Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI - Instituto de estándares clínicos y de laboratorio) (National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2009), utilizando un formato de 384 pocillos en un medio de caldo de cultivo Muller Hinton ajustado en cationes. Se incluyeron el control de medios, el control de cultivo y los controles de fármacos de referencia apropiados. El crecimiento se monitoriza comprobando la absorbencia a 600 nm. La concentración inhibidora mínima (CIM) se señaló como la concentración que dio como resultado una inhibición del crecimiento de ≥ 80 %.

Cinética de eliminación en un caldo 7H9 y en macrófagos THP-1 humanos

El ensayo de la cinética de eliminación en un caldo 7H9 se realizó en un volumen de 200 μ l utilizando placas de 96 pocillos con un medio Middlebrook 7H9. Se realizaron diluciones dobles en serie en DMSO de forma separada, oscilando las concentraciones desde 128 a 0,25 mg/l. De cada una de estas diluciones, se añadieron 4 μ l en los respectivos pocillos en una placa de 96 pocillos, que contenía aproximadamente 3×10^7 de UFC/ml de Mtb H37Rv. Las placas se incubaron a 37 °C, y en los días 0, 3, 7, 10, 14 se diluyeron partes alícuotas en el caldo Middlebrook 7H9 y se sembraron en placas de agar Middlebrook 7H11. Las colonias bacterianas se contaron después de 21-28 días. Los datos se expresaron como el \log_{10} de UFC para cada tratamiento farmacológico.

Eficacia intracelular de 1,4-azaindol en macrófagos THP-1

Las células THP-1 (ATCC) se cultivaron en un frasco de 75 cm² para su confluencia utilizando un RPMI 1640 con 10 % de suero fetal de ternero (Sigma, St. Louis, Missouri) suplementado con 2 mM de L-glutamina. Las células se cultivaron en un incubador a 37 °C con un 5 % de CO₂ y un 95 % de aire hasta que alcanzaron una densidad de 500.000 células/ml. Del cultivo, las células a una densidad de $1-2 \times 10^5$ células/ml se infectaron con *M. tuberculosis* H37Rv a una multiplicidad de infección (MOI) de 1:10 (macrófago: bacteria) durante 2 horas a 37 °C (infección de la serie). Después de 2 horas, las células se lavaron dos veces con tampón fosfato salino precalentado para eliminar las bacterias extracelulares, y después se resuspendieron en RPMI1640 completo. Se utilizó forbol miristato acetato (Sigma) a una concentración de 40 nM para diferenciar las células de los macrófagos, y se permitió que se adhirieran a una placa de 96 pocillos durante 24 horas a 37 °C. Tras las 24 horas, se añadieron concentraciones variables de los compuestos de prueba a las monocapas, y se incubaron durante 7 días. Las monocapas de macrófagos se observaron periódicamente con un microscopio para monitorizar los cambios adversos en la morfología celular, provocados por la toxicidad del fármaco. Al inicio del tratamiento con el fármaco y a los 7 días después del tratamiento, las monocapas se lavaron cuidadosamente y se produjo la lisis con 0,04 % de SDS y se sembraron sobre placas de agar Middlebrook 7H11. Las colonias bacterianas se contaron después de 21-28 días. Los datos se expresaron como el \log_{10} de UFC para cada tratamiento farmacológico.

Actividad antimicrobiana contra la hipoxia inducida por las células de Mtb persistente no replicante (NRP)

Los cultivos de *M. tuberculosis* H37Rv se adaptaron a condiciones de hipoxia, tal y como se describe en Wayne y Hayes (1996), con modificaciones mínimas. Brevemente, las células de Mtb se cultivaron en un caldo de Dubos Tween en frascos McCartney con una bolita magnética utilizando una relación del espacio libre superior definida (HSR) de 0,5. Se añadió azul metileno como indicador redox (concentración final de 1,5 μ g/ml) a todas las botellas para monitorizar el agotamiento del oxígeno. Los frascos McCartney se colocaron sobre un agitador magnético ajustado a 180 rpm, dentro de un incubador a 37 °C. El indicador de azul metileno comenzó a extinguirse en torno al día 8, y se decoloró completamente a los 12 días. La actividad antimicrobiana de varios compuestos frente a las células de Mtb NRP se determinó en placas de 96 pocillos utilizando un cultivo adaptado a la hipoxia de 14 días, tal y como se describió anteriormente con la sección de determinación de la CIM. Todo el ensayo se realizó en una cámara de hipoxia (DuPoy) exponiendo las células hipóxicas a concentraciones variables de los compuestos durante 7 días a 37 °C. Una tira indicadora anaeróbica se colocó dentro de la cámara para confirmar visualmente la eliminación del oxígeno durante todo el proceso. El recuento bacteriano se realizó sobre placas de agar Middlebrook 7H11. La isoniazida y nigericina se utilizaron como controles en el ensayo. La isoniazida no mostró reducción en la UFC bacteriana, incluso a una concentración de 10 μ g/ml, indicando un estado NRP estricto. Los datos se expresan como el \log_{10} de UFC para cada tratamiento farmacológico.

Citotoxicidad de A549

La citotoxicidad *in vitro* de los compuestos se midió frente a células de carcinoma pulmonar humanas A549, tal y como se describe en Eakin y col. (2012). Brevemente, las células A549 (ATCC) se cultivaron en un medio de RPMI (GIBCO-BRL) que contenía 10 % de suero bovino fetal inactivado por calor (GIBCO-BRL) y 1 mM de L-glutamina (GIBCO-BRL) a una densidad de ~1.000 células/pocillo. Tras la incubación de las células con el compuesto en una atmósfera de CO₂ a 37 °C durante 72 horas, la viabilidad celular se determinó después de la adición de 10 µM de solución de resazurina (Sigma), midiendo la fluorescencia (excitación a 535 nm, emisión a 590 nm) utilizando un fluorímetro. La concentración a la que se inhibe el crecimiento en 50 % es la que se toma como el valor IC₅₀.

Generación de mutante, frecuencia de resistencia y secuenciación y análisis del genoma completoGeneración de cepas mutantes resistentes y frecuencia de resistencia

Los mutantes resistentes espontáneos se elevaron frente al compuesto **31** y **32** utilizando un procedimiento de selección de un solo paso. Brevemente, se centrifugó un cultivo en fase semilogarítmica de Mtb H37Rv y se concentró 100 veces para conseguir un número de bacterias de ~10¹⁰ de UFC/ml. Las diluciones variables del cultivo de bacterias se sembraron sobre placas que contenían el compuesto (concentración correspondiente a 4X, 8X y 16X conc. de CIM. Las diluciones apropiadas del cultivo de bacterias también se sembraron sobre placas de agar Middlebrook 7H11 sin fármaco para contar el número de bacterias en el cultivo. Las placas se incubaron durante 4 semanas a 37 °C y se contaron las UFC de las placas sin fármaco. Las placas con fármaco se incubaron durante hasta 6 semanas a 37 °C para confirmar el número final de colonias espontáneamente resistentes. El índice espontáneo de resistencia se calculó dividiendo el número de colonias de las placas con fármaco (a una concentración determinada) por el número total de bacterias viables estimado en las placas sin fármaco. Las colonias resistentes se seleccionaron aleatoriamente de las placas con fármaco y se cultivaron en un caldo 7H9 completo para determinar su nivel de resistencia frente al compuesto específico, así como otros fármacos de la TB habituales con diferentes mecanismos de acción.

Secuenciación del genoma completo

El ADN total para la secuenciación del genoma completo se extrajo de células de Mtb resistente utilizando un procedimiento fenol-cloroformo estándar. La producción se cuantificó en un fluorómetro Qubit 2.0 utilizando el kit de ensayo de rango amplio de ADNbc (Life Technologies, Grand Island, Nueva York). La generación de la biblioteca se llevó a cabo utilizando el kit de preparación de muestras de ADN Nextera XT y los cebadores de índice Nextera XT (Illumina, San Diego, California). El procedimiento recomendado se siguió con las siguientes excepciones; se utilizó una concentración inicial de ADN alta y la etapa de normalización de la biblioteca al final se omitió a favor de la cuantificación por QPCR de la biblioteca. La QPCR se llevó a cabo en un ciclador BioRad CFX96 utilizando el kit de cuantificación de bibliotecas (KK4824) de Kapa BioSystems (Woburn, Massachusetts). Las bibliotecas, cuando se diluyeron a una concentración habitual de 4 nM y 2,5 µl de cada muestra (8-12 muestras dependientes) se combinaron y desnaturalizaron con 1N NaOH (concentración final de 0,1N NaOH) durante 5 minutos. Se diluyó muestra suficiente hasta 600 µl para proporcionar una muestra multiplexada de 15-20 pmol. Las muestras se secuenciaron sobre un instrumento Illumina MiSeq V2 como lecturas de índice individuales de ambos extremos 2X150. Toda la secuenciación se dirigió a una cobertura de ~50 veces.

El ensamblaje análisis de las lecturas de secuencia se realizaron sin instrumentos, utilizando CLCBio Genomics Workbench v 6.0 (Cambridge, Massachusetts). Los archivos fastq se procesaron y analizaron según lo siguiente; las lecturas de secuencia duplicadas se eliminaron y las lecturas restantes se recortaron por calidad y longitud mínima (50 pb). Las lecturas se ensamblaron *de novo* con una alta exigencia (longitud de la fracción = 0,9, fracción de similitud = 0,99) utilizando costes por defecto de emparejamiento incorrecto/inserción/delección. La detección de los SNP/indel en aislados mutantes se logró mapeando las lecturas procesadas en un ensamblaje parental de referencia utilizando las mismas condiciones de ensamblaje. Los SNP basados en la calidad se detectaron a una frecuencia mínima del 80 %, utilizando criterios por defecto. Los SNP/indel relevantes se verificaron mediante comparación BLAST de la región frente al montaje *de novo* para ayudar a eliminar los posibles errores durante el ensamblaje del mapeo dirigido.

Farmacocinética (PK) de los compuestos de azaindol:

La PK de los compuestos de azaindol se llevó a cabo en ratones (sanos e infectados) y en ratas. Los ratones fueron tratados previamente con 100 mg/kg de ABT dos horas antes de la administración del compuesto. Los datos de la PK de los ratones sanos se utilizaron para diseñar la posología para el estudio de eficacia, mientras que la información de los ratones infectados se utilizó para el análisis PK-PD (farmacocinética-farmacodinámica).

Se administraron los compuestos de prueba **3**, **4**, **8** y **17a** los ratones BALB/c o a las ratas Wistar en grupos separados, mediante alimentación forzada oral. Toda la administración oral se llevó a cabo como suspensiones al 0,5 % de HPMC y 0,1 % de Tween 80. En grupos separados, se administraron los compuestos de prueba **3** (0,5 mg/kg) y **17** (2 mg/kg) por vía intravenosa como una solución (20 % v/v de DMA en solución salina tamponada con fosfato). Todas las muestras sanguíneas se recogieron a través de la vena safena en tubos Microvette CB300® (Starstedt, Alemania) recubiertos con litio-heparina, y se preparó el plasma de la sangre recogida mediante

centrifugación.

POPK (farmacocinética poblacional) de un único ratón infectado: Los compuestos y fármacos de referencia se formularon en suspensiones de 0,5 % de HPMC (hidroxipropil metil celulosa) y en 0,1 % de Tween 80. Se administraron 50, 100 y 200 mg/kg por alimentación forzada oral a los ratones BALB/c (3 ratones/grupo). La farmacocinética se realizó en los ratones infectados al 24° día de dosificación (Rennard, 1986). Se recogieron muestras de sangre de cada ratón a las 0,5, 1,5, 3, 5, 7 y 24 horas después de haber administrado el compuesto. Se recogieron aproximadamente 30 µl de muestras de sangre mediante recogida en serie de todos los grupos, a través de la vena safena, en tubos Microvette CB300® (Starstedt, Alemania) recubiertos con litio-heparina, y el plasma (10 µl) se preparó después de la centrifugación. Las muestras de plasma se almacenaron a -20 °C hasta el análisis utilizando CL-EM/EM.

PK del fluido del revestimiento epitelial (ELF): La farmacocinética del ELF (ELF PK) se llevó a cabo en ratones sanos (tres ratones/grupo) tal y como se ha descrito anteriormente (Solapure y col., 2013) tras la administración de una única dosis oral de un compuesto de 100 mg/kg formulado en suspensiones al 0,5 % de HPMC y 0,1 % de Tween 80. Después de 0,5, 1,5, 3, 5, 7, 17 y 24 horas de dosificación, los ratones se anestesiaron utilizando isoflurano y se les extrajo sangre mediante punción del plexo retroorbital. Se realizó un lavado broncoalveolar (LBA) tras una traqueotomía utilizando 0,7 ml de PBS helado. Se utilizó un kit de estimación de la urea DIUR-500 (Bio-assay Systems, EEUU) para la estimación de la urea en el plasma y en las muestras del LBA. Se calculó el volumen de ELF tras normalizar la concentración de urea en el LBA con plasma, tal y como se describe en Marry y col., 2011. Las muestras de plasma y LBA se almacenaron a -20 °C hasta el análisis utilizando CL-EM/EM.

Análisis de las muestras de plasma y LBA: Se preparó una solución concentrada de un mg/ml de cada compuesto en dimetilsulfóxido (DMSO) y se diluyó dos veces con acetonitrilo. Se utilizó una curva de calibración de dieciséis puntos para cada analito, y las curvas habituales oscilaron desde 0,001 a 40 µg/ml. Las muestras de plasma/LBA se precipitaron añadiendo acetonitrilo refrigerado (1:10 v/v) que contenía carbamazepina como patrón interno (250 ng/ml). Las muestras se agitaron con formación de vórtice y se centrifugaron a 4000 rpm durante 30 minutos a 10 °C. El sobrenadante resultante se mezcló con una fase móvil (50 % de acetonitrilo en agua con ácido fórmico al 0,1 %). Se inyectaron 10 µl de muestra en un sistema de cromatografía líquida (Waters-ACQUITY UPLC) acoplado a un espectrómetro de masas triple cuadrupolo (Waters-ACQUITY-TQD; EM/EM). Las muestras se obtuvieron en modo de iones positivos y se detectaron mediante monitorización de reacciones múltiples (MRM). Las concentraciones del analito se determinaron a partir de una curva estándar obtenida trazando las concentraciones conocidas del analito frente a las relaciones de área máximas (analito/respuesta máxima estándar interna).

Análisis de los datos de la PK sanos e infectados: El análisis de la PK de las relaciones concentración de plasma/tiempo se realizó con un software WinNonlin Phoenix (versión 6.2; Pharsight, EEUU). Un programa de análisis no compartimental, modelo 200, se utilizó para calcular los parámetros de la PK. Se estimaron la concentración máxima de fármaco en el plasma (C_{max}), el tiempo para la C_{max} (T_{max}), eliminación de la semivida ($t_{1/2}$), y la ABC del tiempo cero hasta infinito ($ABC_{0-\infty}$). La ABC se calculó utilizando una regla trapezoidal (lineal ascendente y log descendente) y el valor de $ABC_{0-\infty}$ se consideró solo cuando la ABC extrapolada no era más del 20 % del valor original. Se utilizó un mínimo de tres puntos de muestra en la pendiente terminal para estimar y calcular la semivida.

Análisis de la PK del ELF

El volumen del ELF en las muestras de LBA se calculó como el volumen de LBA multiplicado por la relación de las concentraciones de urea en LBA y el plasma, tal y como se describió (Solapure y col., 2013; Marry y col. 2011). La concentración del compuesto en ELF se calculó multiplicando la concentración de las muestras de LBA por la relación del volumen de LBA con respecto al volumen de ELF. La $ABC_{0-\infty}$ en el plasma y el ELF se calculó mediante el software de análisis no compartimental WinNonlin Phoenix (versión 6.2; Pharsight, EEUU). La ABC del plasma libre se calculó tras multiplicar las concentraciones en cada punto temporal por la fracción libre en el plasma. La relación de penetración del ELF de pulmón se calculó como una relación de $ABC_{0-\infty}$ en el ELF con respecto al $ABC_{0-\infty}$ en el plasma libre/plasma total durante el mismo intervalo de tiempo. Esta relación, medida en ratones sanos tras la administración de una sola dosis, se asumió que permanecería constante durante el estudio de eficacia de dosis múltiples en los ratones infectados. El análisis de las muestras escasas en WinNonlin se utilizó para estimar el error estándar (EE) asociado a la estimación de ABC.

Estudios de eficacia in vivo

Inóculos de infección de Mycobacterium tuberculosis: La Mtb H37Rv (ATCC 27294) sensible a todos los agentes antimicobacterianos habituales, se cultivó tal y como se ha mencionado anteriormente. Tras 7-10 días, las células se obtuvieron mediante centrifugación, se lavaron dos veces en caldo 7H9 y se resuspendieron en caldo 7H9 reciente. Se dispensaron partes alícuotas de un ml y se almacenaron a -70 °C. Las existencias congeladas se descongelaron el día de la infección animal y se utilizaron como inóculos.

Deontología y animales: Todos los protocolos experimentales en animales y su uso fueron aprobados por el Institutional Animal Ethics Committee (IAEC), registrados con el Committee for the Purpose of Control and

Supervision (CPCSEA), Gobierno de India. Los ratones BALB/c macho se compraron en RCC Hyderabad, y las ratas en Bioneds, Bangalore, India. De entre los ratones y las ratas (6-8 semanas), 8 se asignaron aleatoriamente a grupos de tres o cuatro por jaula, y se mantuvieron aclimatados durante una semana antes de iniciar el estudio. Los animales fueron alojados según las normas habituales con un ciclo día-noche de 12 horas. El alimento (Nutrilab®) y el agua se proporcionaron a demanda. Los ratones infectados se mantuvieron en jaulas individualmente ventiladas (Allentown Technologies, EEUU) en una instalación de bioseguridad de nivel 3 (BSL-3). Todos los procedimientos, incluyendo la dosificación y la toma de muestras para la farmacocinética de los ratones infectados se llevaron a cabo en biocontención estricta.

Infección por aerosol: Los ratones y ratas fueron infectados con *M. tuberculosis* mediante un procedimiento de inhalación, utilizando un equipo de aerosol Madison modificado (Jayaram y col., 2003). El modelo de infección grave se estableció mediante infección por aerosol en dosis alta que se instiló a $\sim 10^4$ de UFC/pulmón en los ratones, y el tratamiento farmacológico comenzó tres días después de la infección (Schroeder y col., 2003; Jayaram y col., 2003). Por el contrario, el modelo de infección crónica (ratones y ratas) (Schroeder y col. 2003; Jayaram y col., 2003; Kumar y col., 2014) se desarrolló con infección por aerosol de Mtb a dosis baja, que produjo ~ 50 -100 bacilos/pulmón, y el tratamiento farmacológico comenzó 28 días después de la infección. Se determinó el número de bacterias presentes en los pulmones al comienzo del tratamiento farmacológico. Al final del tratamiento, se practicó la eutanasia de los ratones, los pulmones se extrajeron asépticamente y se homogeneizaron en 3,0 ml de solución salina con gel utilizando trituradoras de tejido Wheaton Teflon-Glass. Los homogeneizados de pulmón se diluyeron en serie en etapas de 10 veces y se sembraron en placas de agar Middlebrook 7H11 suplementadas con un 10 % de ADC. Las placas se incubaron a 370°C con 5 % de CO₂ durante 3 semanas para obtener colonias aisladas.

Estudios de dosis-respuesta in vivo en ratones: Los ratones infectados se pretrataron con dosis orales diarias de 100 mg/kg de aminobenzotriazol (ABT) dos horas antes de la administración del compuesto, para así bloquear las enzimas P450 del metabolismo. Los compuestos de azaindol **3 y 4** se formularon en suspensiones de 0,5 % (p/v) de HPMC y 0,1 % de Tween 80 (Sigma chemical co., EEUU) y se suministraron por alimentación forzada oral. En el modelo de ratón grave, se suministraron dosis a los animales con 50, 100 mg/kg de compuesto **3 y 4** y con isoniazida a 3 mg/kg como control positivo. En el modelo crónico se utilizaron dosis de 30 y 100 mg/kg del compuesto **3 & 4**. La rifampicina a 10 mg/kg se utilizó como control del fármaco de referencia. Se utilizaron dos grupos control del vehículo separados con y sin ABT, para así descartar cualquier efecto secundario del ABT en la infección por Mtb. Todos los fármacos y compuestos de la prueba se administraron por vía oral durante cuatro semanas, en una posología de 6/7 días a la semana. Cuarenta y ocho horas después de la finalización del período de dosificación, se practicó la eutanasia de los animales con CO₂, y los pulmones se extrajeron asépticamente y se contó la UFC después del sembrado, tal y como se ha descrito anteriormente.

Estudios dosis-respuesta in vivo en ratas: Los compuestos de azaindol **8, 17, 30 y 34** se formularon en suspensiones de 0,5 % (p/v) de HPMC y 0,1 % de Tween 80 (Sigma chemical co. EEUU) y se suministraron por alimentación forzada oral. En el modelo crónico de rata, los animales recibieron dosis de 30, 100 mg/kg de los compuestos **8, 17, 30 y 34**. La rifampicina a 10 mg/kg se utilizó como control del fármaco de referencia. Todos los fármacos y compuestos de la prueba se administraron por vía oral durante cuatro semanas, en una posología de 6/7 días a la semana. Cuarenta y ocho horas después de la finalización del período de dosificación, se practicó la eutanasia de los animales con CO₂, y los pulmones se extrajeron asépticamente y se contó la UFC después del sembrado, tal y como se ha descrito anteriormente.

Análisis estadístico: Los recuentos de las colonias obtenidos del sembrado se transformaron en Log₁₀ (X+1), donde x es igual al número total de bacilos viables presentes en una muestra determinada. La versión 4 del *software* Prism (Graph Pad Software, Inc., San Diego, California) se utilizó para realizar los gráficos de los efectos farmacodinámicos. La prueba de comparación múltiple de Dunnet se utilizó para distinguir las diferencias estadísticas en la UFC de los pulmones en ratones tratados frente a ratones no tratados.

Ensayo de solubilidad

La solubilidad de los compuestos en 0,1 M de tampón de fosfato pH 7,4 se determinó tal y como se describe, y se utilizó gliburida como estándar de CC en el ensayo. Brevemente, los compuestos se diluyeron en ACN/agua (40:60) a la concentración deseada, las muestras se secaron utilizando Genevac durante 4 horas, y posteriormente se añadieron 800 µl de tampón. Las placas que contenían el compuesto se agitaron durante 24 horas a 25 °C en un Eppendorf Thermomixer R a 750 rpm. Finalmente, la concentración del compuesto se estimó utilizando análisis de UV y EM.

Ensayo de unión a la proteína de plasma

La unión a la proteína se mide utilizando la técnica de diálisis de equilibrio. El compuesto se añade al plasma al 10 %, dando una concentración de 20 µM y se dializa con tampón isotónico durante 18 horas a 37 °C. Las soluciones de plasma y tampón se analizan utilizando LCUVMS genérico y la primera constante de unión aparente del compuesto derivado. La constante de unión se utiliza entonces para determinar el % libre en el 100 % de plasma.

Ensayo de estabilidad metabólica (Cl_{int} microsomal de ratón/humano)

Se incubó 1 µM de compuesto con 1 mg/ml de microsomas (HLM/MLM mezclado con 20 mg/ml de proteína conc.) a 37 °C en 166 µl de tampón (100 mM de tampón de fosfato pH 7,4) que contenía 2mM de solución de NADPH. se enfriaron 20 µl de mezcla de incubación con 4 volúmenes de acetonitrilo refrigerado en diferentes puntos temporales, es decir 0, 2, 5, 10, 20 y 30 minutos en una placa de 96 pocillos limpia. La placa enfriada se centrifugó a 4000 rpm durante 15 minutos. Se diluyeron 30 µl de sobrenadante en 300 µl con un 50 % de acetonitrilo en agua y se analizó el agotamiento del sustrato utilizando CL-EM/EM.

Ensayo de estabilidad metabólica (Cl_{int} de hepatocitos de rata/humano)

La viabilidad de los hepatocitos criopreservados se determinó utilizando azul de tripano y la conc. celular se ajustó a 10⁶ células por ml con tampón (tampón de KHB). Se incubó 1 µM de compuesto (en acetonitrilo; DMSO al 0,01 %) con 500 µl de hepatocitos (1 millón de células por ml) en una placa NUNC. La reacción se detuvo en diferentes puntos temporales (0, 5, 15, 30, 60, 90 y 120 minutos) a través de la adición de 3 volúmenes de acetonitrilo refrigerado en 100 µl de mezcla de reacción, y se centrifugaron a 4 °C durante 15 minutos. Los sobrenadantes se analizaron utilizando CL-EM/EM para el agotamiento del sustrato.

logD

El coeficiente de reparto octanol-agua (LogD) basado en el principio de agitación del matraz, se ha medido tal y como sigue. La solución acuosa utilizada fue de 10 mM de tampón de fosfato sódico pH 7,4. Los 20 µl del compuesto de 10 mM en DMSO se recogieron en una placa de viales de vidrio. El DMSO se eliminó utilizando GeneVac. Se añadieron 435 µl de octanol utilizando Tomtec, agitado durante 5 minutos para que se disolvieran. La mezcla adicional se realizó por inversión durante 5 horas a 25 °C, y posterior centrifugación durante 30 minutos a 3000 rpm. Se llevó a cabo la cuantificación de CL/UV/APPI/EM de ambas capas, la acuosa y la de octanol. El valor de LogD se determinó según la siguiente ecuación.

$$\text{LogD} = \text{Log} \left(\frac{\text{octanol/vol. de octanol inyect.}}{\text{tampón/vol. de tampón inyect.}} \right)$$

El procedimiento se ha validado en una oscilación del LogD de -2 a 5,0.

25 Ensayo hERG

Los compuestos se probaron sobre canales iónicos voltaje-dependientes utilizando el dispositivo de electrofisiología de rendimiento medio IonWorks™. Los procedimientos detallados con respecto al uso de IonWorks™ se han publicado en Schroeder 2013. Para llevar a cabo el experimento, se cargó un portamuestras en la posición de las "células" del instrumento IonWorks™ con la suspensión celular, y una placa de destino de PBS de 96 pocillos se colocó en la posición "Placa 1". Se colocó una placa PatchPlate™ de 384 pocillos en la cámara de IonWorks™ y se mantuvo en posición utilizando la pinza de la cámara. A partir de este punto, el progreso del experimento es automático, y finalmente, informa de una curva de concentración-efecto no acumulativa para el compuesto de la prueba.

Sumario

Los compuestos desvelados, a pesar de que destruyen la Mtb y la *Mycobacterium smegmatis* (Msm), no mostraron actividad frente a patógenos de amplio espectro, sugiriendo así una especificidad excelente frente a patógenos diana (tabla 2, figura 25). Los compuestos de las series retienen la CIM para aislados clínicos resistentes a un solo fármaco y farmacosenibles de Mtb (tabla 3, figura 26), sugiriendo su potencial para una terapia frente a la MDR TB y a la TB farmacosenible. Los compuestos presentaron una cinética de eliminación dependiente del tiempo frente a la Mtb replicante, con reducciones de ~4 log₁₀ en unidades formadoras de colonias (UFC) en el día 10, a una concentración de 1-4 veces de la CIM (figura 1). Los compuestos también fueron activos en la Mtb intracelular, con una reducción de ~1 log₁₀ en la UFC a concentraciones de 1 a 4 veces mayores que la CIM en las células THP1 infectadas con Mtb (figura 2). Además de su potente actividad sobre las bacterias replicantes, un subconjunto de moléculas de la serie muestra una actividad moderada frente a la Mtb no replicante en condiciones de hipoxia (destrucción medida como HBC en el modelo Wayne) representada por el compuesto 3 (tabla 4). Se halló que el compuesto de la serie no era citotóxico en la línea celular del adenocarcinoma de pulmón humano A549 después de 72 horas de tratamiento (MMIC >100 µM, tabla 4). También se ha observado una viabilidad de los macrófagos de >95% THP-1, después de 7 días de exposición al compuesto a un máximo de 32 µM (tabla 4).

La figura 25 muestra la tabla 2, Especificidad de los patógenos.

50 La figura 26 muestra la tabla 3, Actividad frente a la Mtb sensible a los fármacos y a la Mtb resistente a los fármacos.

Tabla 4. Propiedades microbiológicas de los compuestos

Compuesto n.º	CIM de Mtb (µM)	CBM de Mtb (µM)	HBC de Mtb (µM)	MMIC (A549) (µM)
3	1,56-3,12	1,56-3,12	50	>100
4	0,39-1,56	0,78-1,56	>100	>100
8	<0,39	<0,39	100	>100
17	1,56-3,12	0,78-1,56	>100	>100

Los mutantes resistentes espontáneos con susceptibilidad reducida a 1,4-azaindol se elevaron a una frecuencia de $2,9 \times 10^{-9}$ a una concentración 8x CIM (tabla 5). La secuenciación del genoma completo de los mutantes de Mtb resistentes reveló un único cambio de nucleótidos en dprE1 (Rv 3790), resultando en una sustitución de aminoácidos en la posición 314 (Tyr → His) sin ninguna diana secundaria significativa observada. Mientras que los compuestos en esta serie eran resistentes cruzados a la cepa de mutante (Tyr314His), no se observó resistencia para los fármacos de referencia, incluyendo BTZ043. Las mutaciones de dprE1 cisteína387 (Cys → Ser, Cys → Gly) que presentan resistencia a BTZ043 (Makarov, V. y col. Science, 324, 801-804 (2009), no mostró resistencia cruzada a 1,4-azaindol (tabla 6). Además, la especificidad a la diana se volvió a confirmar mediante modulación de la CIM sobre la sobre expresión de DprE1, como también se observa para BTZ043 (tabla 6).

Tabla 5. Frecuencia de resistencia

	CIM de Mtb H37Rv (µM)	CBM de Mtb H37Rv (µM)	HBC de Mtb H37Rv (µM)	MMIC (A549) (µM)
Compuesto 31	1,56-3,12	3,12-6,25	12,5-25	>82
Compuesto 32	1,56-3,12	1,56-6,25	>200	>100
	CIM de Mtb DprE1 OE (µM)	Mtb DprE1 C387S	CIM de Mtb DprE1 C387G (µM)	CIM de Mtb DprE1 Y314H (µM)
Compuesto 31	25	0,78	0,78	25
Compuesto 32	50	0,39	0,39	200

Tabla 6. Resistencia cruzada en la serie y compuestos de referencia

Valores en µM	Mtb H37Rv	Mtb DprE1 OE	Mtb DprE1 C387S	Mtb DprE1 C387G	Mtb DprE1 Y314H
Compuesto 3	3,12	50	3,12	0,78	>100
Compuesto 4	0,39	25	0,39	0,39	>200
Compuesto 8	0,39	6,25	0,39	0,39	>200
Compuesto 17	1,56	100	0,39	0,78	>200
BTZ043	0,003	50	>0,1	>0,1	0,0015-0,003
Isoniazida	0,06	0,03	0,06	0,06	0,06
Etambutol	2	2	2	4	2,0-4,0
Rifampicina	0,01	0,003	0,003	0,003	0,006
TMC207	0,6	0,15	0,3	0,15	0,15-0,3
Moxifloxacina	0,125	0,06	0,06	0,06	0,06
Ofloxacina	1	0,5	0,5	0,5	0,5
D-cicloserina	8	8	8	8	8,0-16,0
Clofazimina	0,125	0,06	0,03	0,03	0,125

Los compuestos de la serie se perfilaron para las propiedades del metabolismo de los fármacos *in vitro* y de la farmacocinética (DMPK), los compuestos representativos se muestran en la tabla 7. La solubilidad de DMSO seco para los compuestos 3, 4 y 8 fue menor que en el compuesto 17; la solubilidad mejorada puede atribuirse a la cadena lateral de hidroxiethylamida. Los valores de unión a la proteína (% libre) para los compuestos 3-4, 8 y 17 fue de entre el 5 % y 22 %. La eliminación prevista de los compuestos 3-4, 8 y 17 osciló de 4 a 18 % del flujo sanguíneo del hígado (%LBF), estimada utilizando microsomas humanos, hepatocitos humanos y hepatocitos de rata. Por el contrario, la eliminación prevista fue mayor en los microsomas de ratón (tabla 8), sugiriendo que existen mecanismos de eliminación específicos de especies. La permeabilidad medida por el ensayo Caco-2 sugirió que estos compuestos son altamente permeables sin ninguna expulsión significativa observada. Los compuestos de la serie no mostraron inhibición de las enzimas CYP a 50 µM (tabla 7), sugiriendo su potencial para la terapia de combinación. El perfilado de seguridad *in vitro* de los compuestos 3-4, 8 y 17 frente un panel de dianas humanas y canales humanos reveló que no existían obligaciones de seguridad mayores con esta serie (tabla 7).

Tabla 7. DMPK y propiedades de seguridad de los compuestos

Compuesto	3	4	8	17
logD	2,1	3,0	2,6	1,8
Solubilidad (μM)	8 ^a	5 ^a	4 ^a	124
Microsomas de CL _{pred} humano (% LBF)	10,4	15,6	10,1	16,1
Hepatocitos de CL _{pred} humano (% LBF)	6,0	4,3	4,3	9,2
Hepatocitos de CL _{pred} de rata (% LBF)	13	13	14,9	17,9
PPB humano (% libre)	9,8	5	5	22
Caco-2 A-B/B-A (1E-6.cm/s)	25/17	38/24	33/17	11/30
Inhibición de CYP ^b (μM)	>50	>50	>50	>50
hERG (μM)	>33	>33	>33	>33
Resultados positivos farmacológicos secundarios IC ₅₀ (μM)	Sin resultados positivos significativos			

[a]: Solubilidad de la cinética en medios de prueba 100 μM , [b]: CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4.

Tabla 8. Eliminación intrínseca alta para los microsomas de ratón

Compuesto	3	4	8	17
Cl _{int} Mo micrsomal ($\mu\text{l}/\text{min}/\text{mg}$)	104	180	108	25

En función de las propiedades *in vitro*, los compuestos 3-4, 8 y 17 se perfilaron para la PK *in vivo* en ratones y ratas para evaluar la exposición oral. Las exposiciones de la PK en ratón se midieron en presencia de aminobenzotriazol (ABT), se utilizó un Panhinibidor de isoformas CYP para bloquear la eliminación específica de ratón. Se observaron exposiciones orales significativas para los compuestos 3-4, 8 y 17 tanto en rata como en ratón (figura 3, tabla 9). En la rata, se observó una buena correlación entre la eliminación *in vitro* e *in vivo* con un 92 % de biodisponibilidad para el compuesto 17 (tabla 9). La eficacia *in vivo* de dos compuestos representativos (3 y 4) se evaluó en los ratones BALB/c en modelos de TB "graves" y "crónicos" (Jayaram y col., 2003; Marry y col. 2011; Kumar y col. 2014). En el modelo grave, el tratamiento empezó 3 días después de la infección, mientras que el tratamiento se inició en el día 28 en el modelo crónico. Cuatro semanas de tratamiento de los compuestos 3 y 4 redujo la carga bacteriana en los pulmones en > 1.5 log₁₀ de UFC y se observó una eficacia estadísticamente significativa dependiente de la dosis (figura 1). Las exposiciones orales de los compuestos 3 y 4, evaluadas de animales infectados, mostraron ABC que oscilaban entre 200-700 $\mu\text{M}\cdot\text{h}$ y las concentraciones se mantuvieron por encima de la CIM durante ~10h después de cada dosis (%T > CIM de ~10 horas), dando como resultado en una eficacia en el modelo crónico de ratón (figura 4; tabla 10). De manera interesante, los niveles de los compuestos 3 y 4 medidos en el fluido del revestimiento epitelial de pulmón (ELF PK) del ratón sano fueron comparables con los niveles de plasma libre para ambos compuestos (figura 4, tabla 11), demostrando exposiciones significativas en el sitio diana. Por lo tanto, se observó una buena correlación entre el plasma y/o los niveles de ELF y el efecto farmacodinámico. En los modelos de ratón crónico y grave, los animales toleraban las dosis administradas durante un mes, y no se observaron efectos secundarios en términos de peso corporal y anatomía patológica macroscópica.

Tabla 9. Parámetros farmacocinéticos de los compuestos en ratones sanos BALB/c y ratas Wistar después de la administración de una sola dosis (los datos son la media \pm DT, n=3 salvo que se indique lo contrario).

Compuesto		3	4	8 ^a	17 ^b
POPK de ratón (+ABT)	Dosis (mg/kg)	100	100	30	50
	ABC _{0-∞} ($\mu\text{M}\cdot\text{h}$)	521.50 \pm 19,60	346.73 \pm 42,75	64,19	420.30 \pm 23,5
	T _{max} (h)	6.33 \pm 1,15	4.67 \pm 1,15	2	1.33 \pm 0,58
	C _{max} (μM)	66.01 \pm 11,17	44.12 \pm 13,0	13,36	74.79 \pm 15,61
	T _{1/2} (h)	1.91 \pm 0,11	3,63, 1,46	4,15	1.78 \pm 0,10
IVPK de rata	Dosis (mg/kg)	0,5			2
	CL ($\mu\text{l}/\text{min}/\text{kg}$)	15.50 \pm 3,21			27,35
	V _{ss} (l/kg)	1.05 \pm 0,28	ND	ND	7,34
	ABC _{0-t} ($\mu\text{M}\cdot\text{h}$)	1.60 \pm 0,29			3,46
	T _{1/2} (h)	2,22 \pm 2,51			2,06
POPK ^c de rata	C _{0h} (μM)	1,76 \pm 0,42			2,64
	Dosis (mg/kg)	30	30	30	20
	ABC _{0-∞} ($\mu\text{M}\cdot\text{h}$)	101,38	22,86	29,29	59,82
	T _{max} (h)	2,0	3,0	4,5	0,5
	C _{max} (μM)	15,01	2,35	3,69	17,84
	T _{1/2} (h)	2,01	3,64	3,58	2,74
	F	96%	ND	ND	100%

ND: sin determinar; ^a compuesto 5 (n=2); ^b compuesto 6 para IVPK de rata (n=2); para todos los compuestos (n=2)

Tabla 10. La relación de penetración del ELF de 1,4-azaindol en ratones sanos BALB/c después de la administración oral de una dosis (los datos son la media \pm DT, n=3 salvo que se indique lo contrario).

Compuesto	3			4		
	ELF	Plasma	f Plasma	ELF	Plasma	f Plasma
Matriz	100			100		
Dosis (mg/kg)	100			100		
C _{max} (μM)	74,0 \pm 3,77	63,84 \pm 7,37	4,85 \pm 0,56	39,92 \pm 13,71	38,09 \pm 5,86	1,52 \pm 0,07
ABC _{0-∞} (h*μM)	712,85 \pm 176,16	573,27 \pm 78,76	43,46 \pm 5,96	410,37 \pm 91,52	406,81 \pm 44,56	12,97 \pm 2,78
Relación de penetración del ELF (en función de la ABC del plasma <i>libre</i>)*	7,29-26,10			12,4-50,9		
Relación de penetración del ELF (en función de la ABC del plasma <i>total</i> 0,60-1,97)	0,60-1,97			0,52-1,51		

*calculada en función de Hu PPB % libre; Relación de penetración del ELF calculada a un intervalo confidencial del 95 %

Tabla 11. Parámetros farmacocinéticos de 1,4-azaindol en ratones infectados BALB/c después de dosis orales múltiples (los datos son la media \pm DT, n=3 salvo que se indique lo contrario).

Compuesto	3		4		
	Dosis (mg/kg)		Dosis (mg/kg)		
POPK infectada de ratón de eficacia intensa (+ABT)	Dosis (mg/kg)	50	100	50	100
	C _{max} (μM)	17,79 \pm 5,61	41,28 \pm 10,28	38,91 \pm 15,16	72,62 \pm 8,31
	ABC _{0-∞} (μM*h)	106,08 \pm 3,04	332,15 \pm 152,51	199,62 \pm 101,21	529,03 \pm 85,07
	T _{max} (h)	4,33 \pm 1,15	3,83 \pm 2,84	4,50 \pm 2,78	5,67 \pm 2,31
	T _{1/2} (h)	2,38 \pm 0,19	3,02 \pm 1,99	2,23 \pm 0,35	2,02 \pm 0,09
	% fT>CIM	23	41	39	50
	% T>CIM	58	66	75	83
POPK infectada de ratón de eficacia crónica (+ABT)	Dosis (mg/kg)	30	100 ^a	30	100 ^b
	C _{max} (μM)	32,78 \pm 14,41	71,24	17,36 \pm 1,76	43,17
	ABC _{0-∞} (μM*h)	251,94 \pm 64,01	695,76	226,98 \pm 28,87	772,33
	T _{max} (h)	2,00 \pm 0,87	3	5,67 \pm 2,31	5
	T _{1/2} (h)	4,46 \pm 0,16	4,4	3,85 \pm 0,54	4,21
	% fT>CIM	29	63	29	100
	% T>CIM	92	100	100	100

^acompuesto 3 (n=2); ^bcompuesto 4 (n=1)

5 **Tabla 12.** Parámetros farmacocinéticos (Media \pm DT) de los compuestos de 1,4-azaindol después de la administración oral de la dosis múltiple (100 mg/kg) en ratas Wister macho infectadas con Mtb.

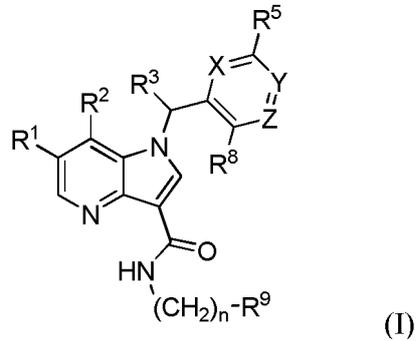
Compuesto	8	17	30	34
Dosis (mg/kg)			100	
C _{max} (μM)	11,9 \pm 3,0	46,1 \pm 7,7	3,4 \pm 2,0	31,5 \pm 3,0
T _{max} (h)	1,5 \pm 0,6	5,3 \pm 1,2	3,3 \pm 2,3	2,0 \pm 0,0
ABC _{0-∞} (μM*h)	98,4 \pm 31,9	986,4 \pm 274,3	23,3 \pm 11,7	166,1 \pm 43,9
T _{1/2} (h)	7,2 \pm 1,3	3,8 \pm 0,6	3,3 \pm 1,1	4,6 \pm 0,0

REFERENCIAS

- Jayaram y col. Antimicrob. Agents Chemother. 47, 2118-2124 (2003).
- Balganesh y col., Antimicrob. Agents Chemother. 54, 5167-5172 (2010).
- 10 National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2009. Volumen 29, Número 2. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pennsylvania, Wayne and Hayes Infect. Immun. 64, 2062-2069 (1996).
- Eakin y col., Antimicrob. Agents Chemother 56, 1240-1246 (2012).
- Reddy y col., Eur. J. Pharm. Sci. 47, 444-450 (2012).
- 15 Louie y col., Antimicrob. Agents Chemother 53, 3325-30 (2009).
- Rennard, S.I. y col., J. Appl. Physiol. 60, 532-538 (1986).
- Solapure y col., Antimicrob. Agents Chemother. 57, 2506-2510 (2013).
- Marry y col., Antimicrob. Agents Chemother. 55, 1237-1247 (2011).
- Schroeder y col., J. Biomol. Screen. 8, 50-64 (2003).
- 20 Marry y col., Antimicrob. Agents Chemother. 55, 1237-1247 (2011).
- Kumar y col., Tuberculosis. (2014).

REIVINDICACIONES

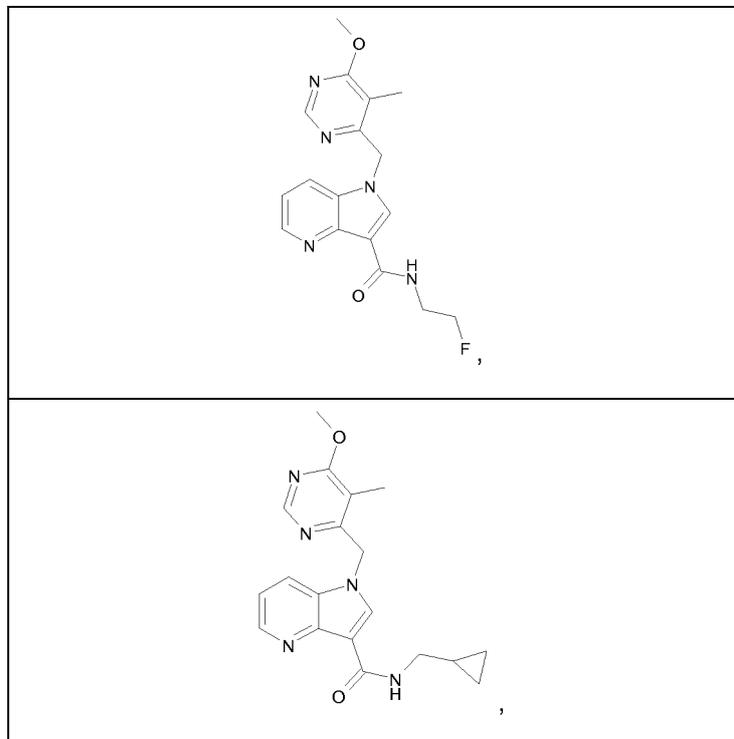
1. Un compuesto de fórmula (I):



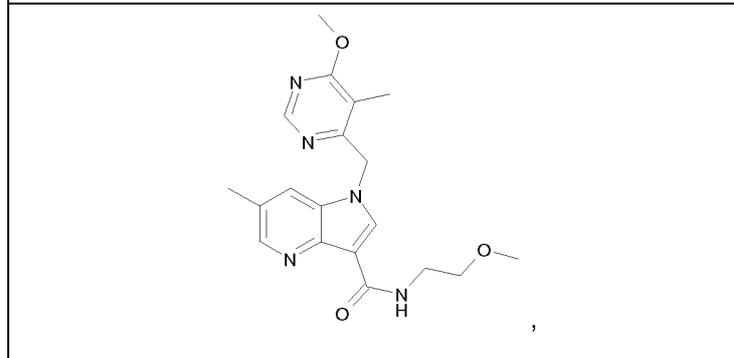
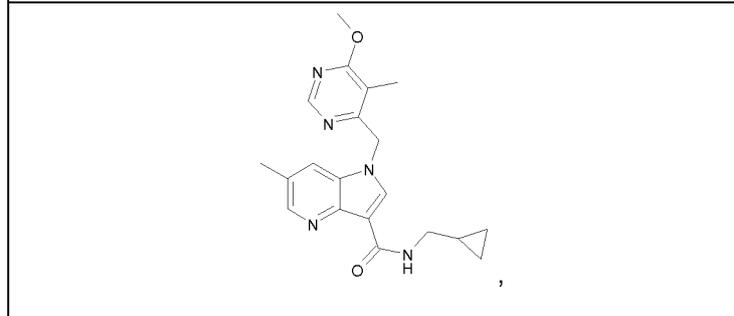
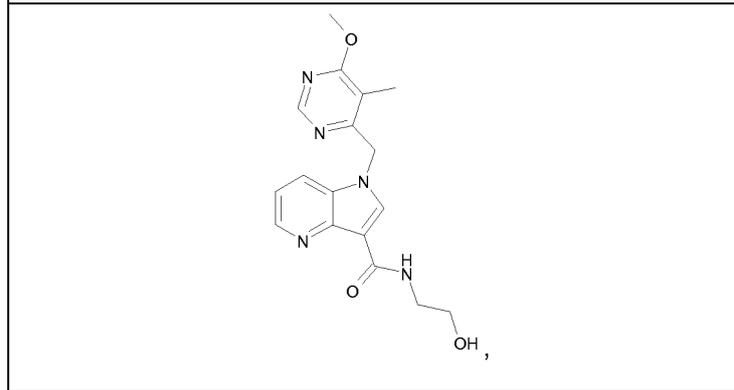
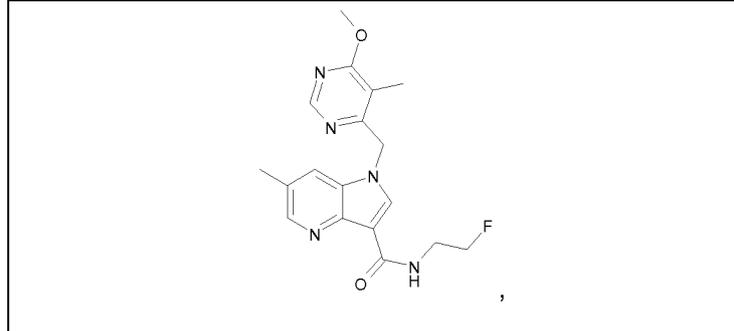
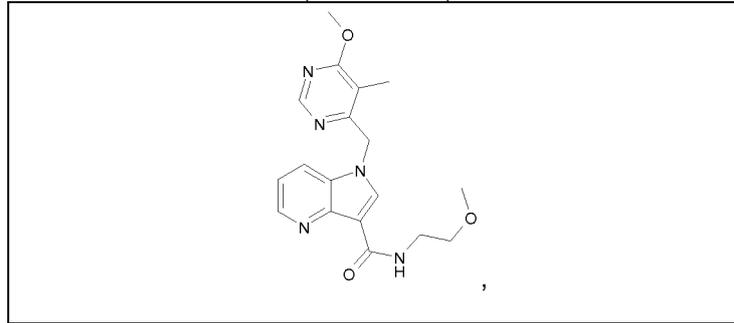
en la que

- 5 R¹ se selecciona entre hidrógeno, flúor, bromo, -OCH₃ y metilo;
 R² es hidrógeno o metilo;
 R³ es hidrógeno o metilo;
 X es N;
 R⁵ se selecciona entre hidrógeno, flúor, -CF₃ y -CN;
 10 Y es N;
 Z es N o CR⁷;
 R⁷ se selecciona entre hidrógeno, flúor, -OCH₃, -OCHF₂, -OCH₂CF₃ y -N(CH₃)₂;
 R⁸ se selecciona entre hidrógeno, flúor, metilo y -OCH₃;
 n es 1 o 2;
 15 R⁹ se selecciona entre flúor, ciclopropilo, -OCH₃, -OH, -OCF₃, CHF₂, -CH(F)CH₃ y -CH(OH)CH₃, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

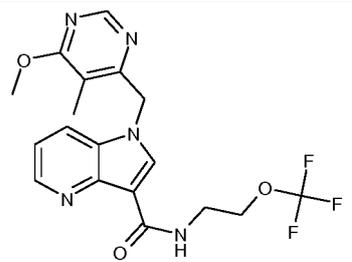
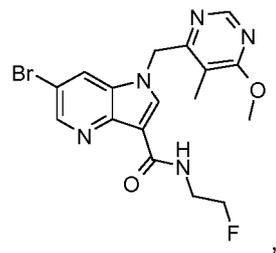
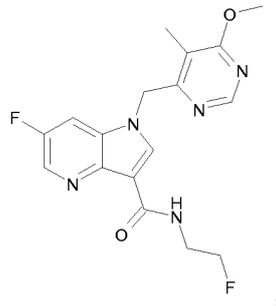
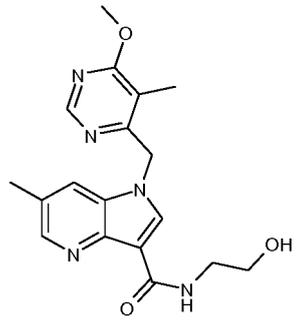
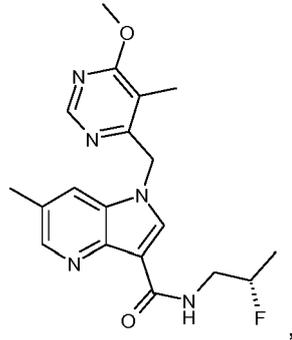
2. El compuesto de la reivindicación 1, en el que el compuesto se selecciona entre:



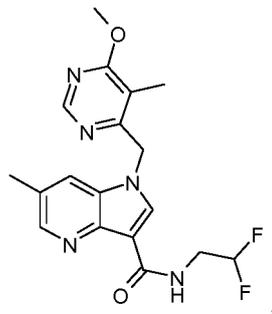
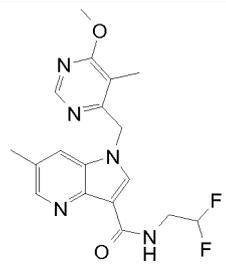
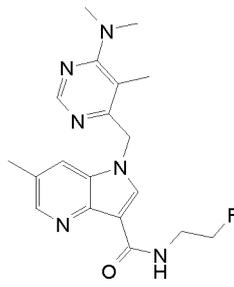
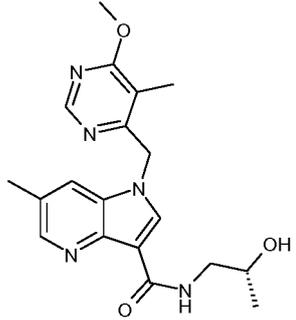
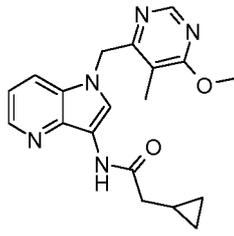
(continuación)



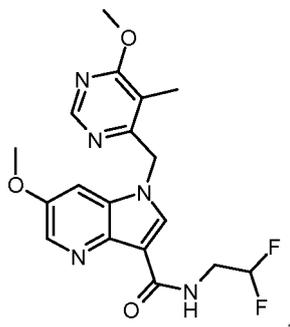
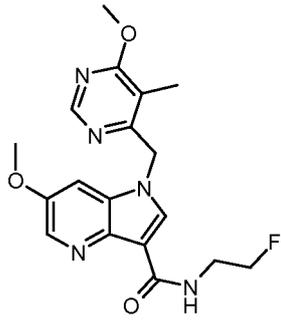
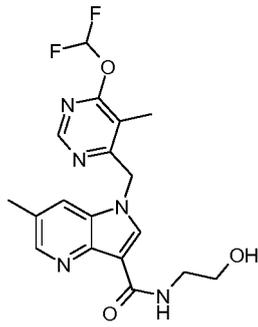
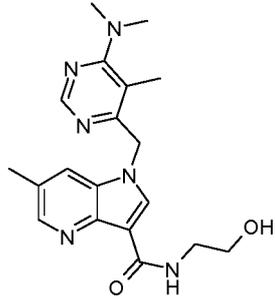
(continuación)



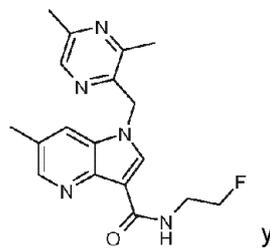
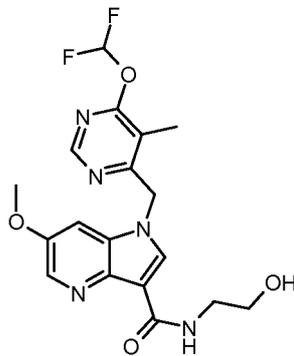
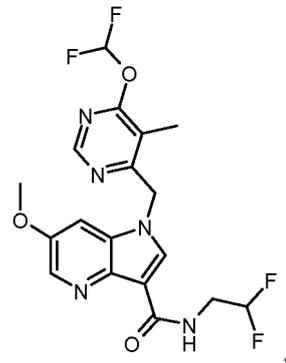
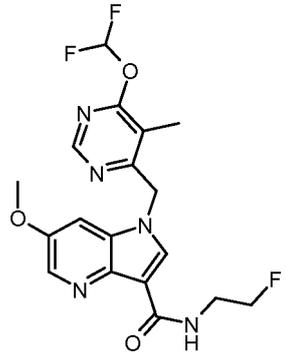
(continuación)



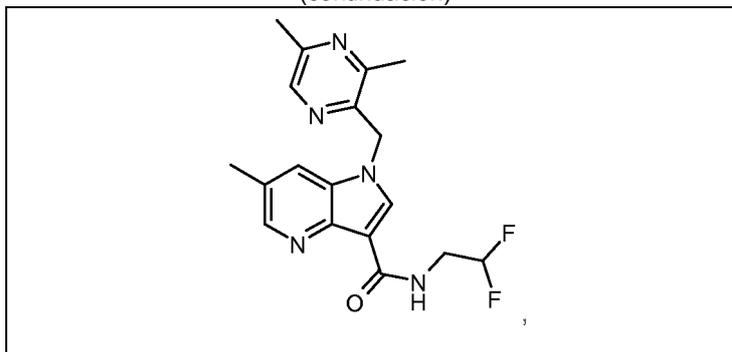
(continuación)



(continuación)



(continuación)



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

3. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la reivindicación 1 o reivindicación 2, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.
4. Un compuesto de la reivindicación 1 o reivindicación 2, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de la tuberculosis o una infección por *Mycobacterium*.
5. Un compuesto de la reivindicación 1 o reivindicación 2, para su uso en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la tuberculosis o una infección por *Mycobacterium*.
6. Una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la reivindicación 1 o reivindicación 2, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la tuberculosis o una infección por *Mycobacterium*.
7. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de reivindicación 1 o reivindicación 2, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de la tuberculosis o una infección por *Mycobacterium*.
8. Un compuesto de la reivindicación 1 o reivindicación 2, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de la infección por *Mycobacterium* que expresa DprE1.
9. Un compuesto de la reivindicación 1 o reivindicación 2, para su uso en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la infección por *Mycobacterium* que expresa DprE1.
10. Una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la reivindicación 1 o reivindicación 2, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la infección por *Mycobacterium* que expresa DprE1.
11. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la reivindicación 1 o reivindicación 2, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el tratamiento de la infección por *Mycobacterium* que expresa DprE1.

Figura 1

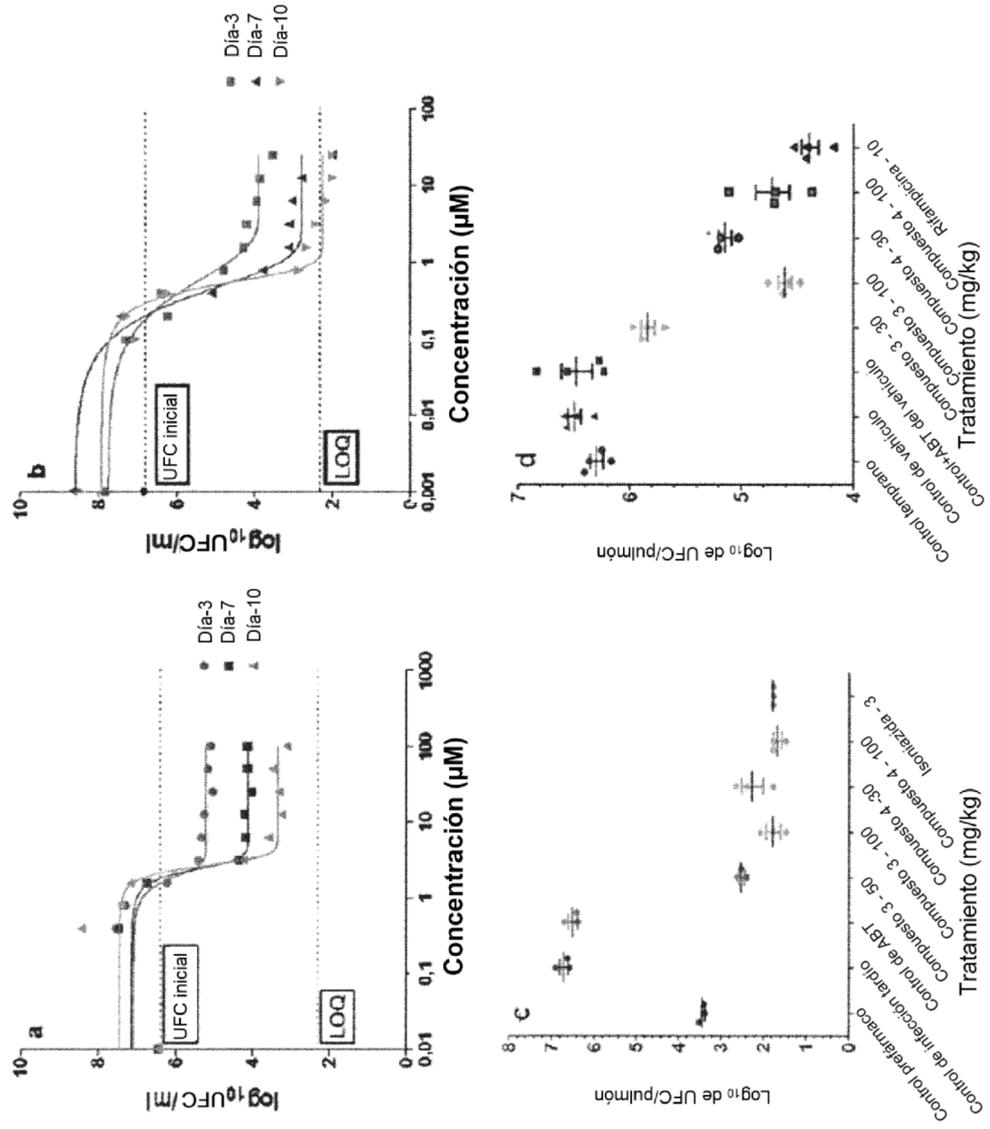


Figura 2

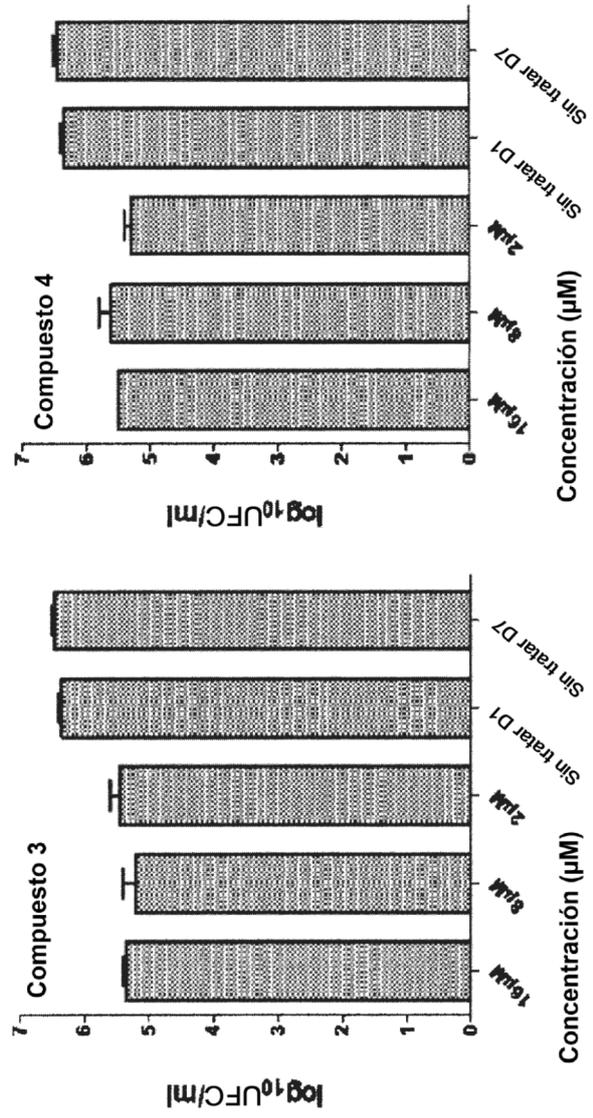


Figura 3

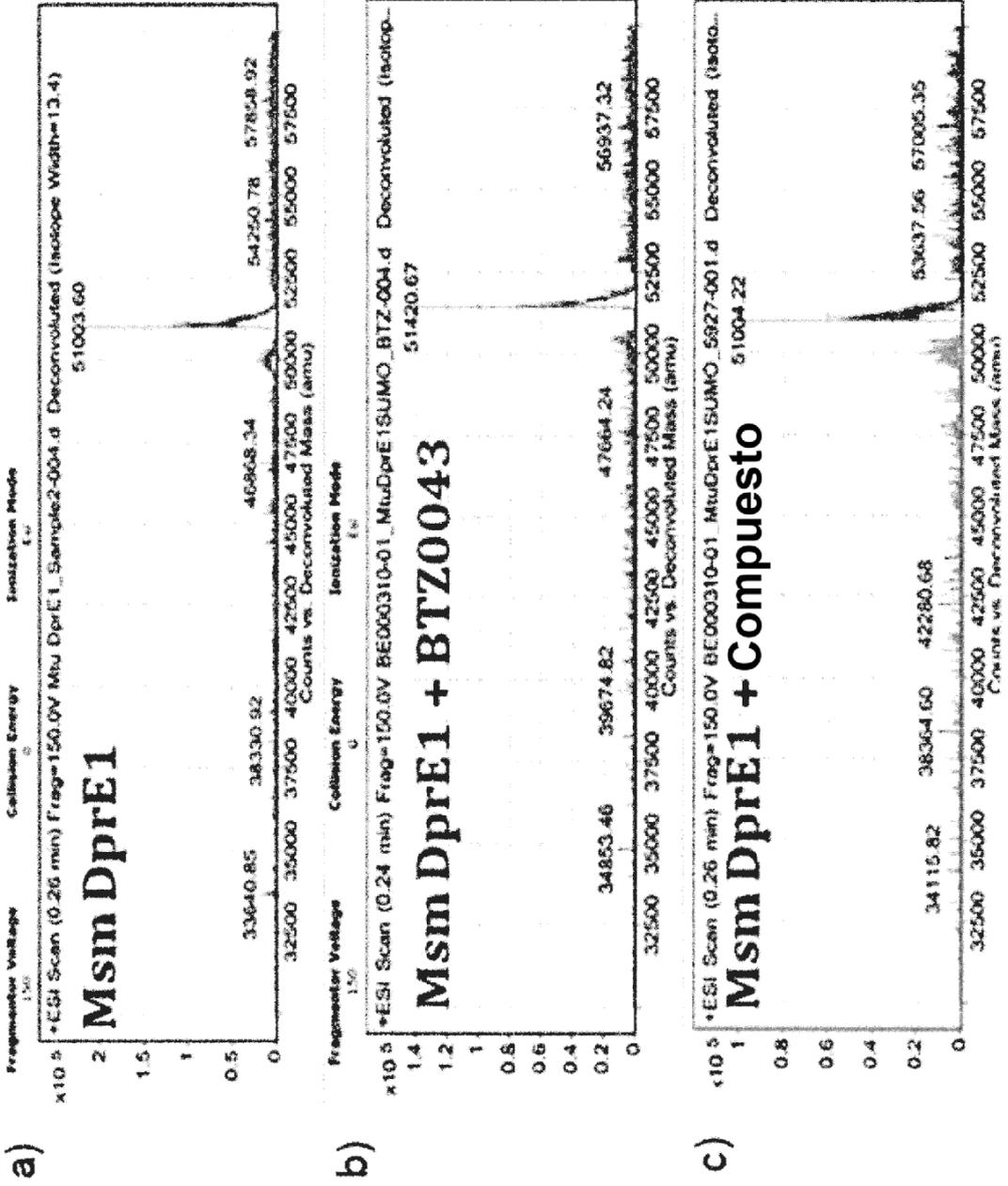


Figura 4

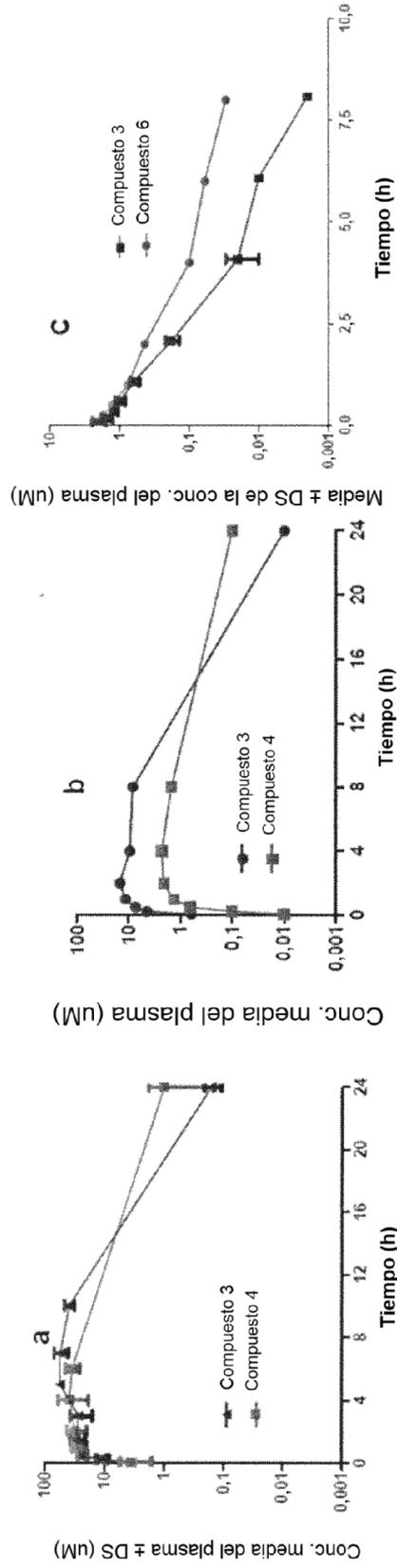


Figura 5

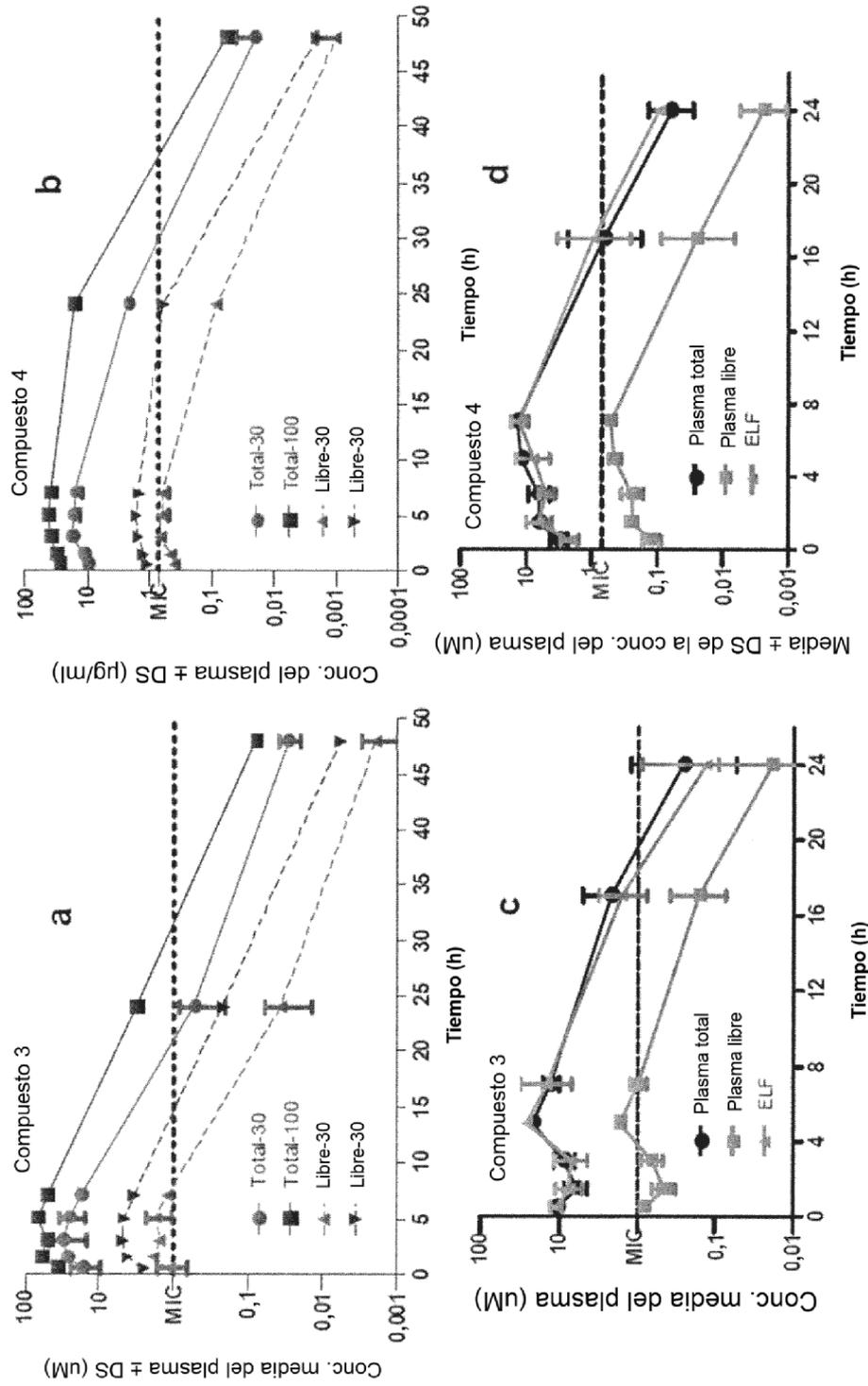


Figura 6

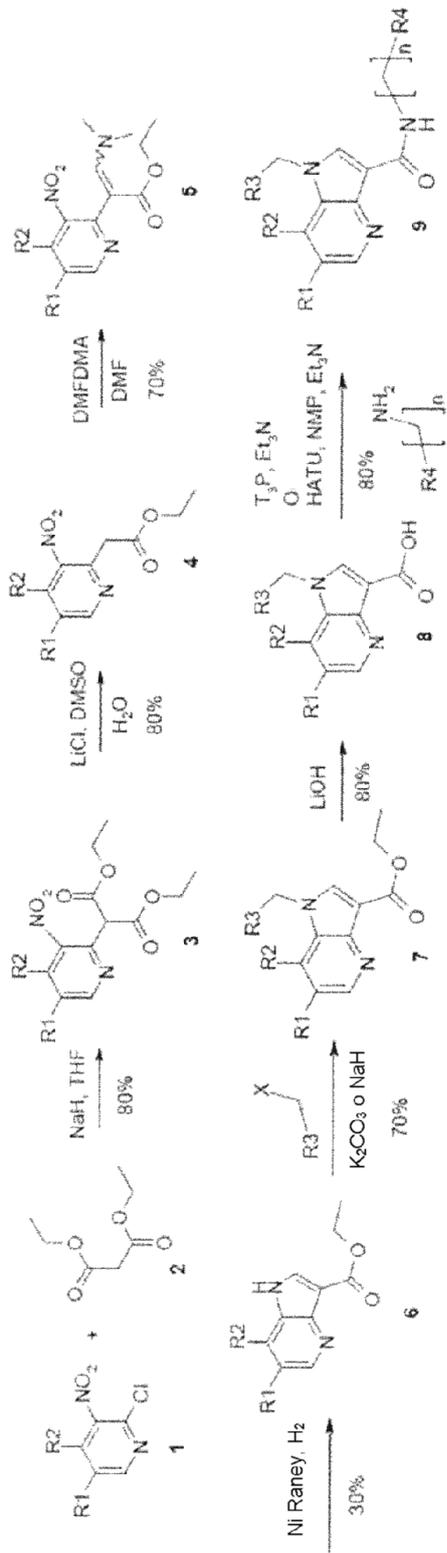


Figura 7

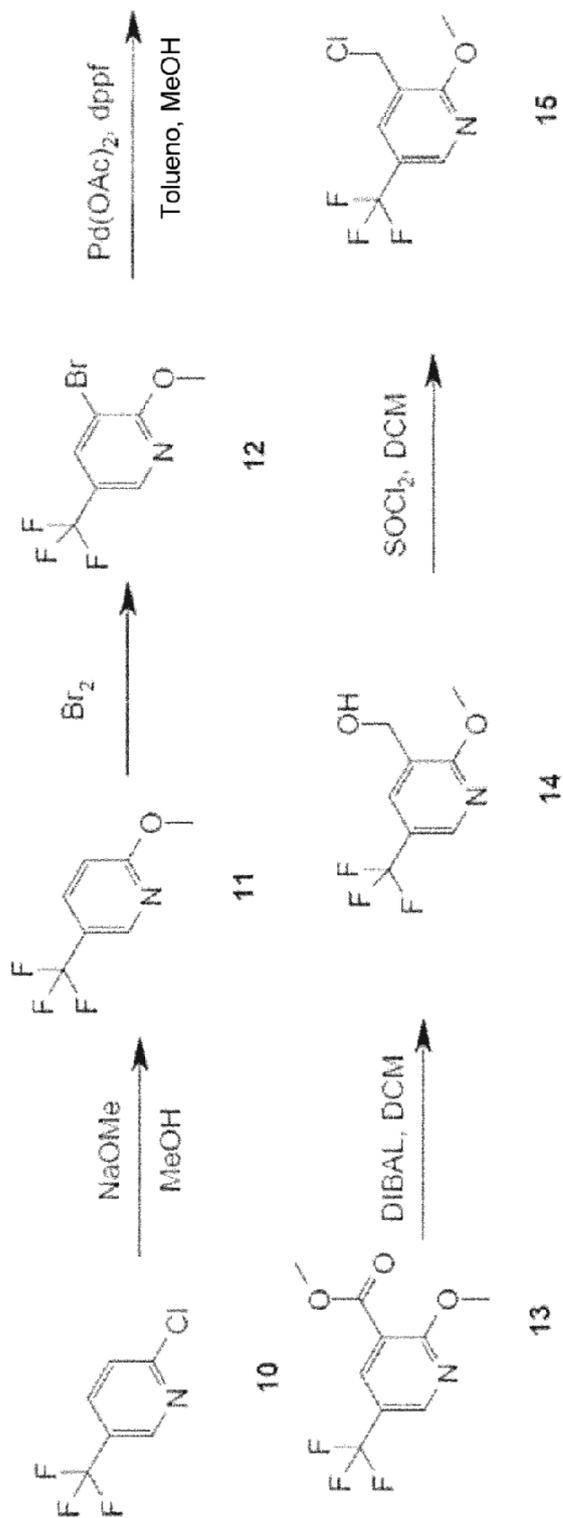


Figura 8

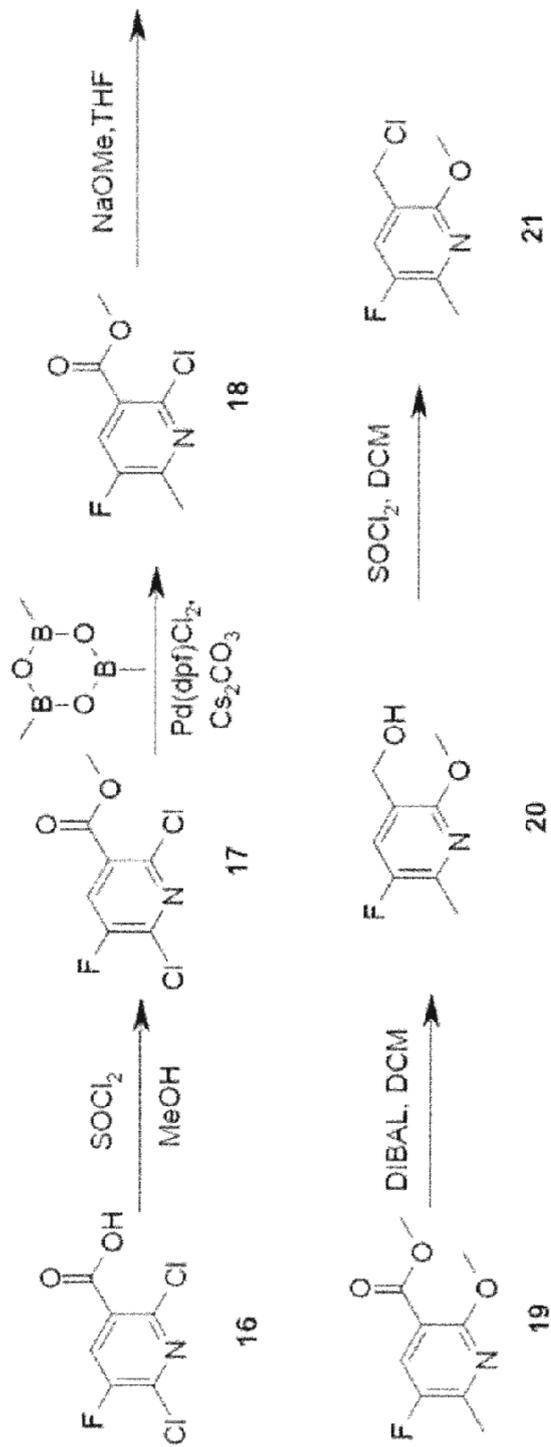


Figura 9

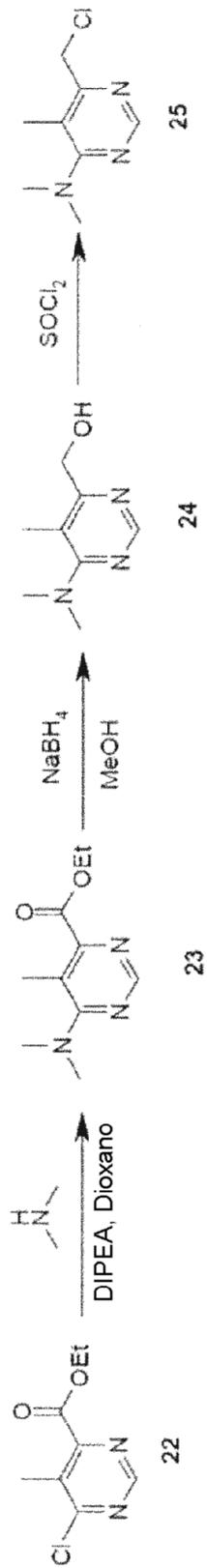


Figura 10

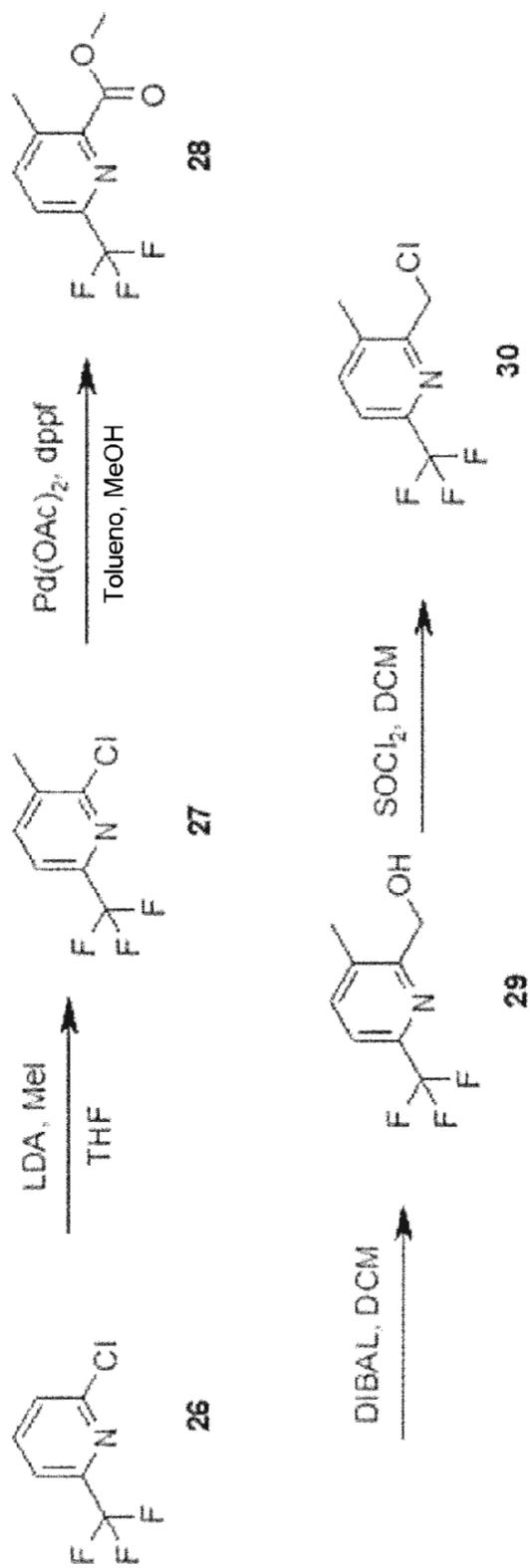


Figura 11

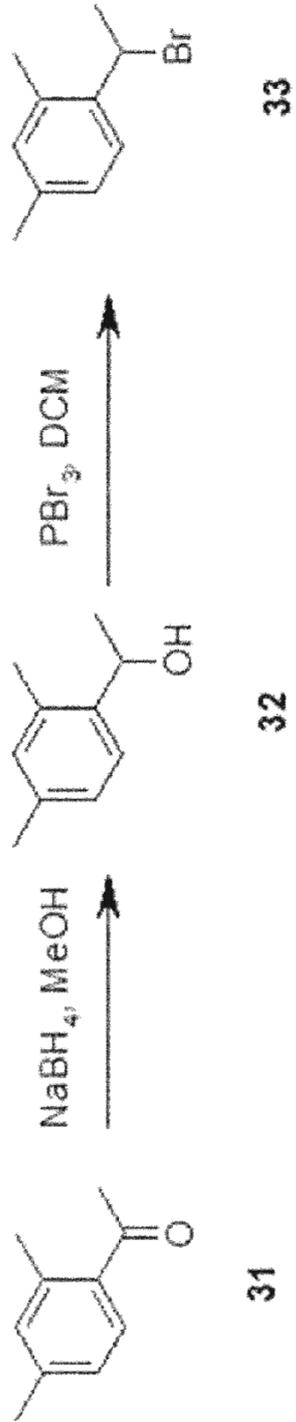


Figura 12

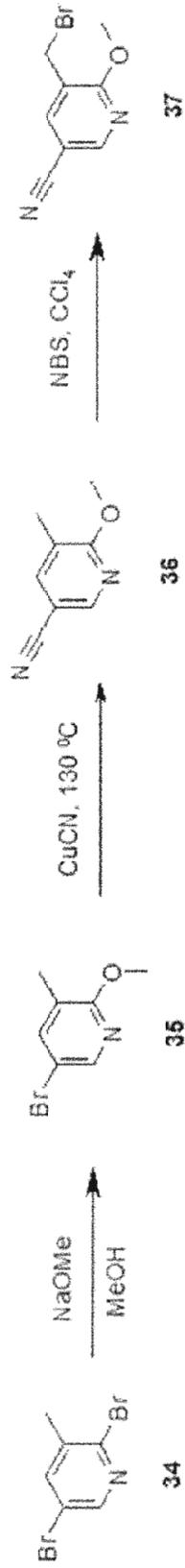


Figura 13

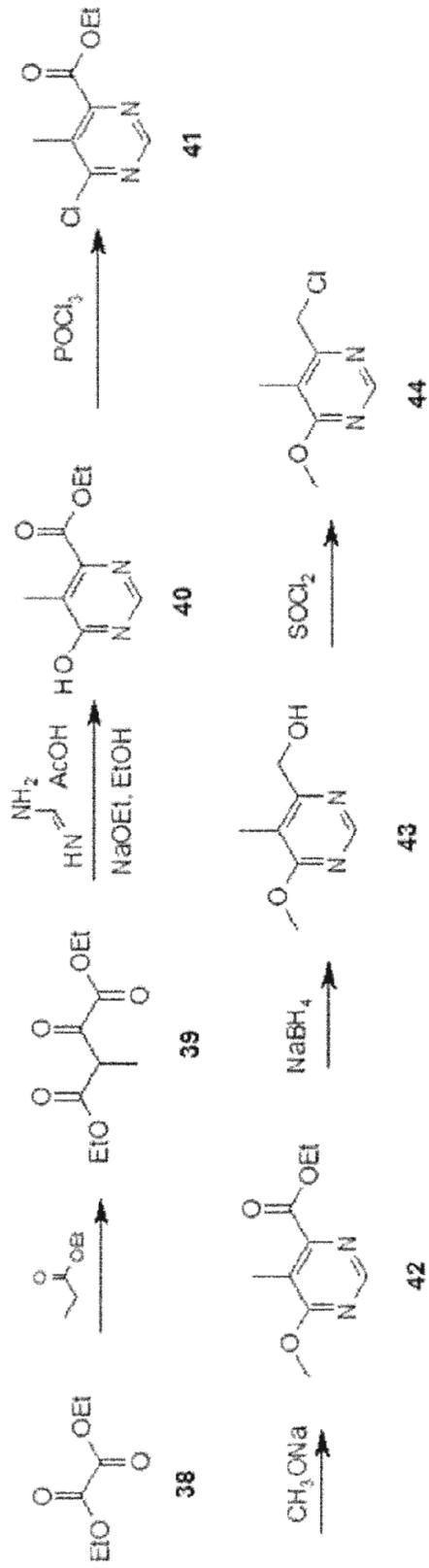


Figura 14

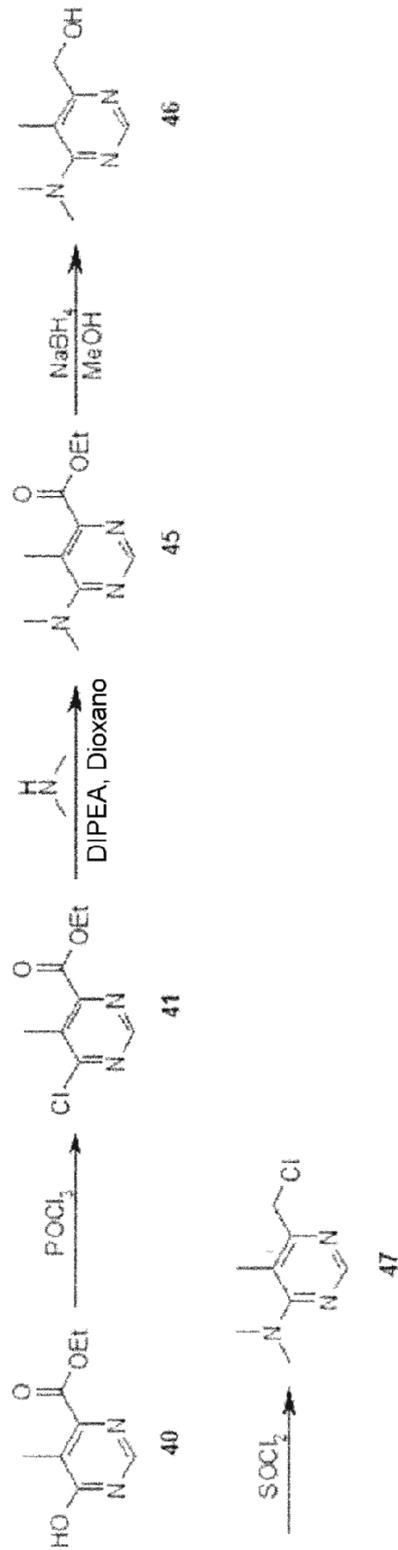


Figura 15

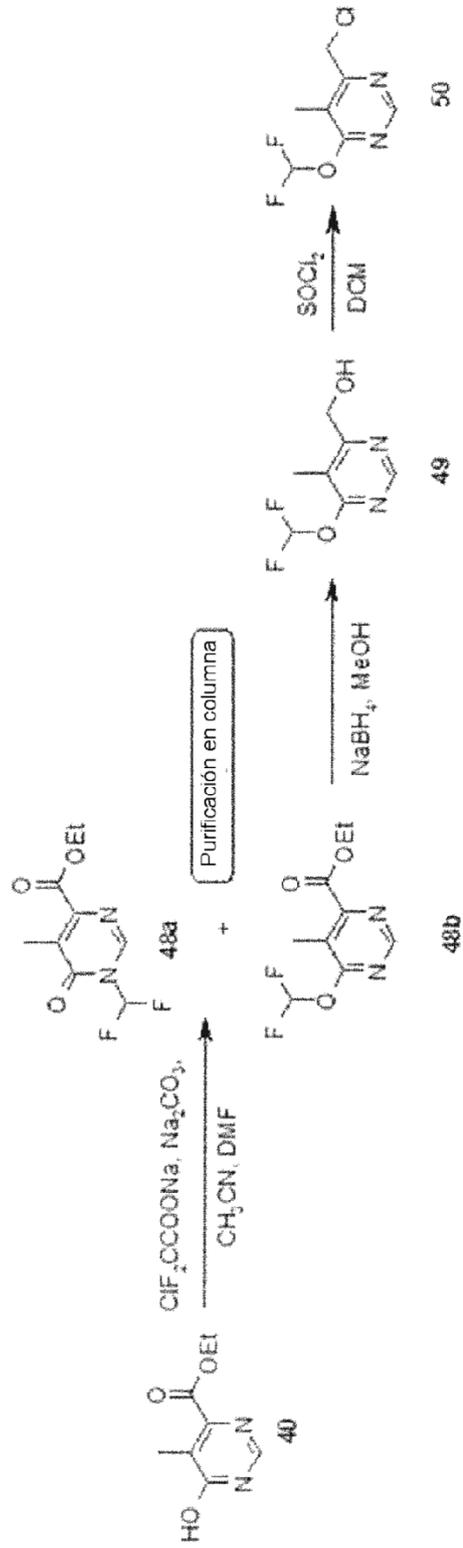


Figure 16

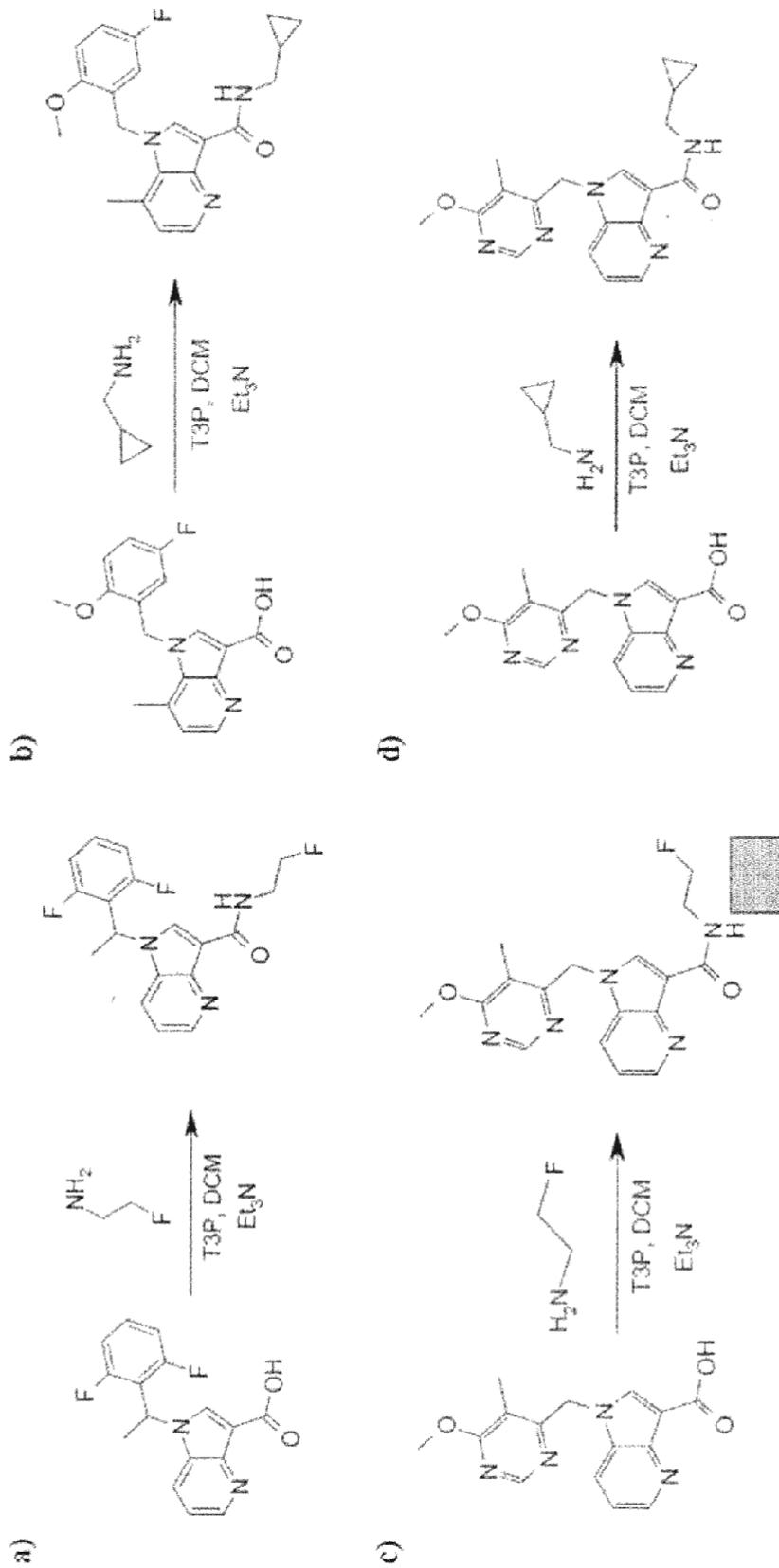


Figura 17

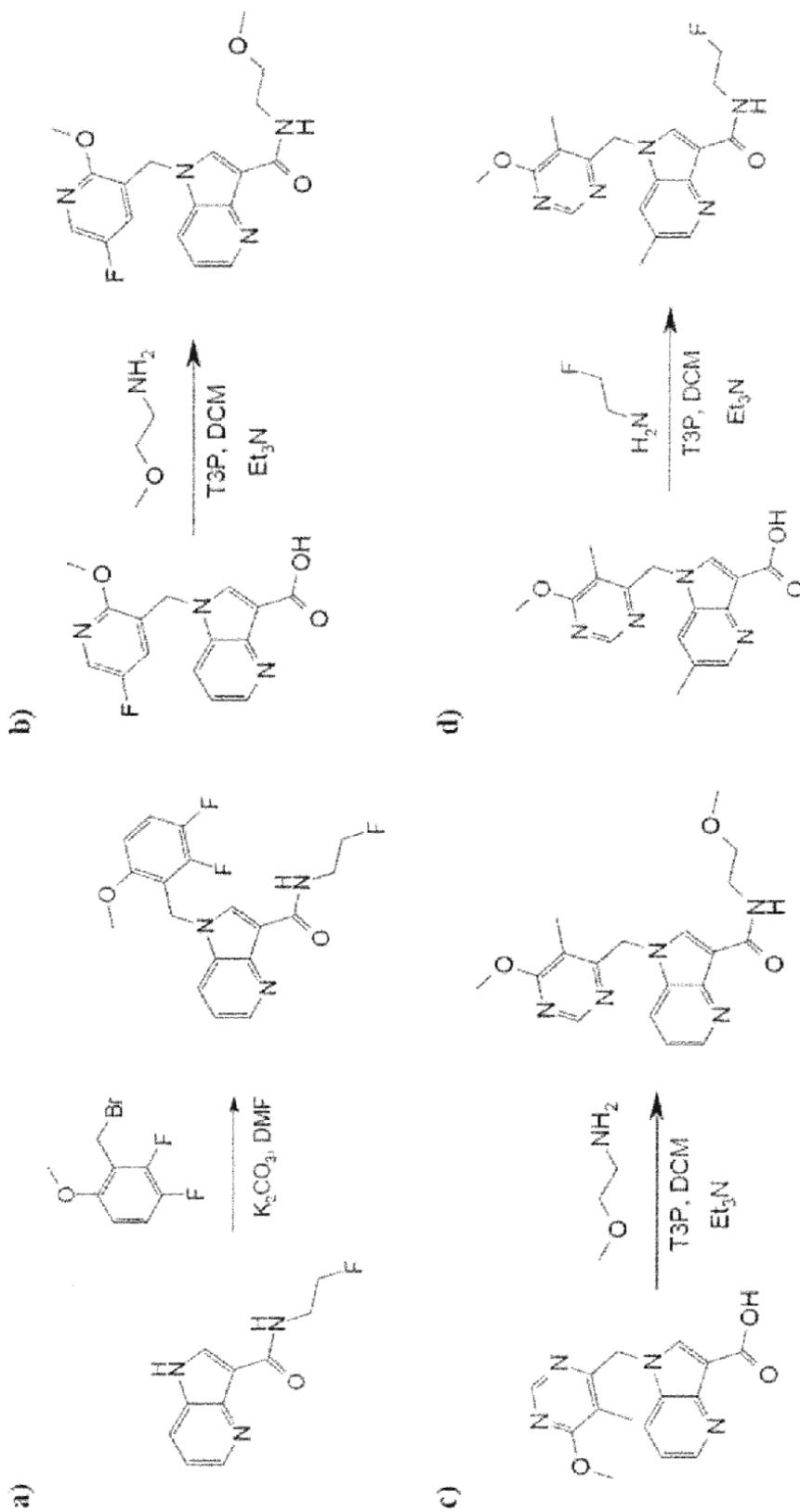


Figura 18

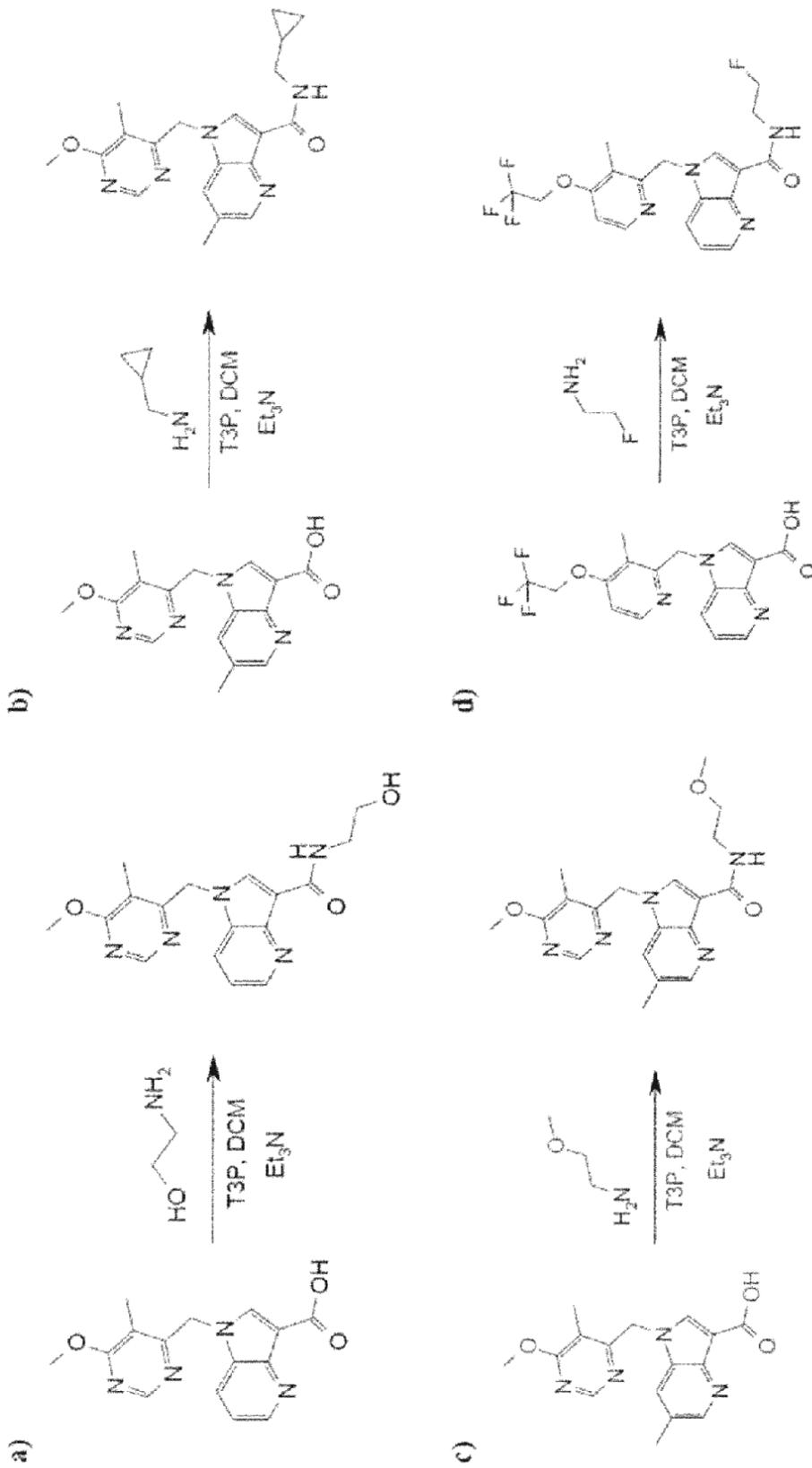


Figure 19

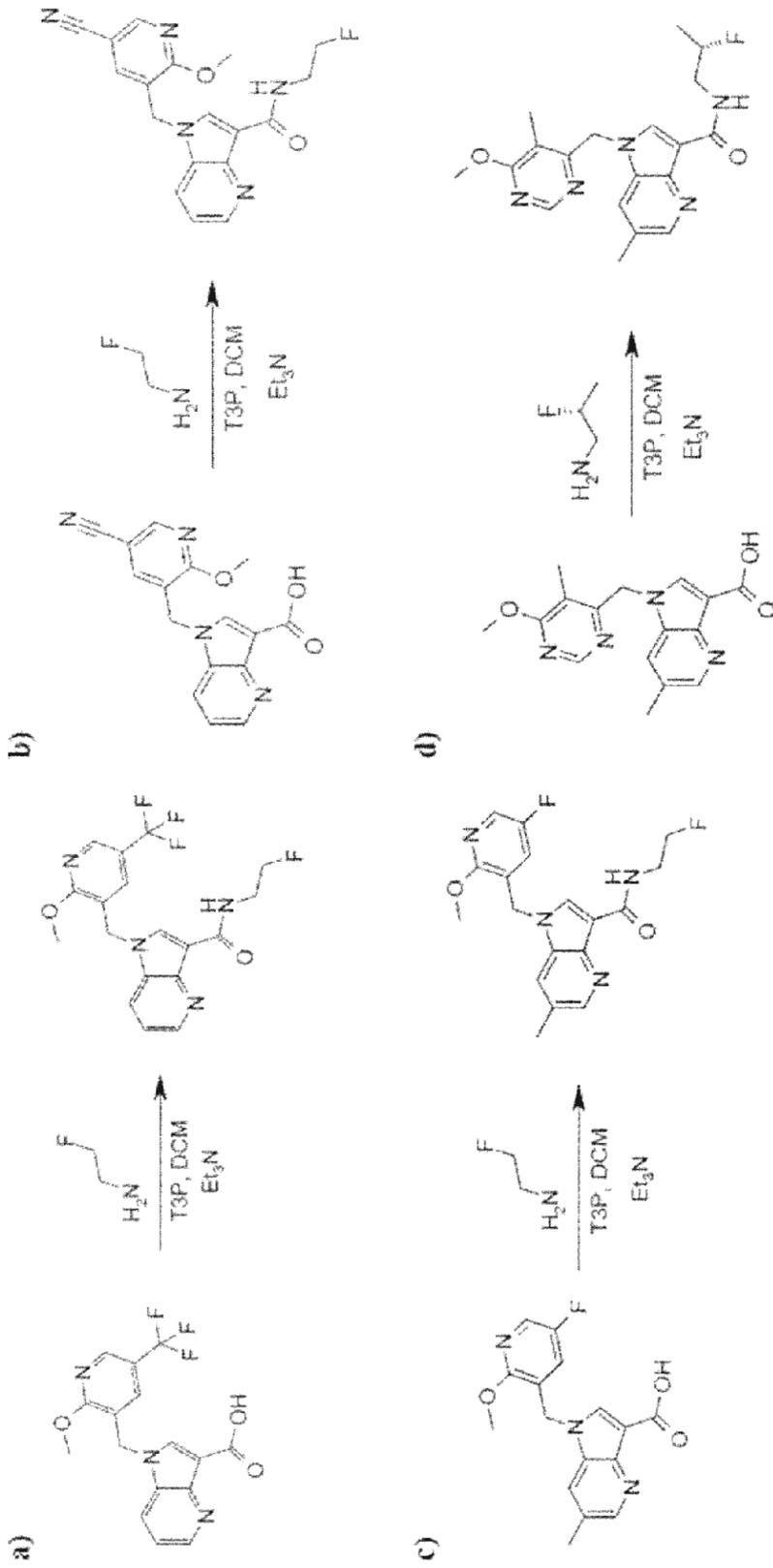


Figura 20

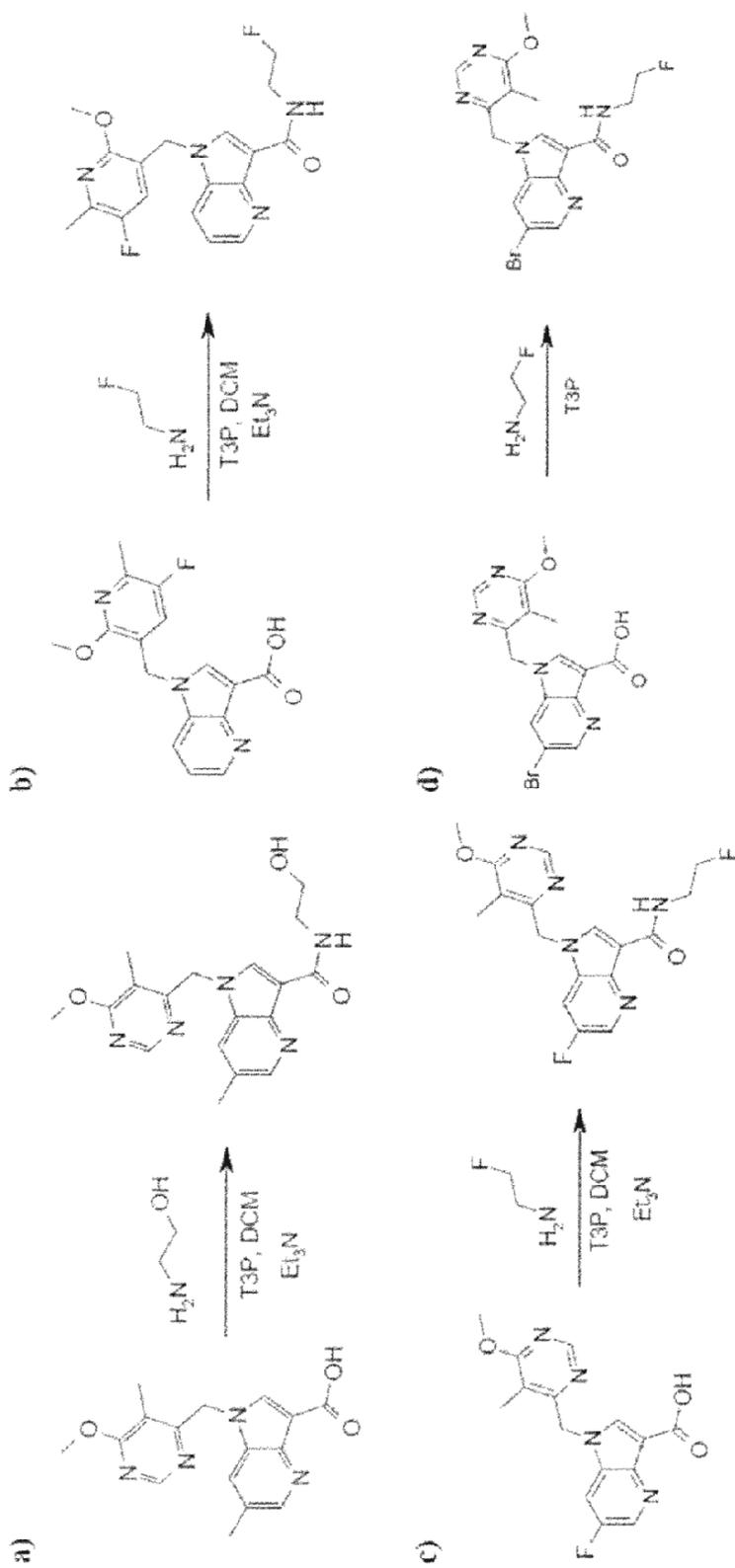


Figure 21

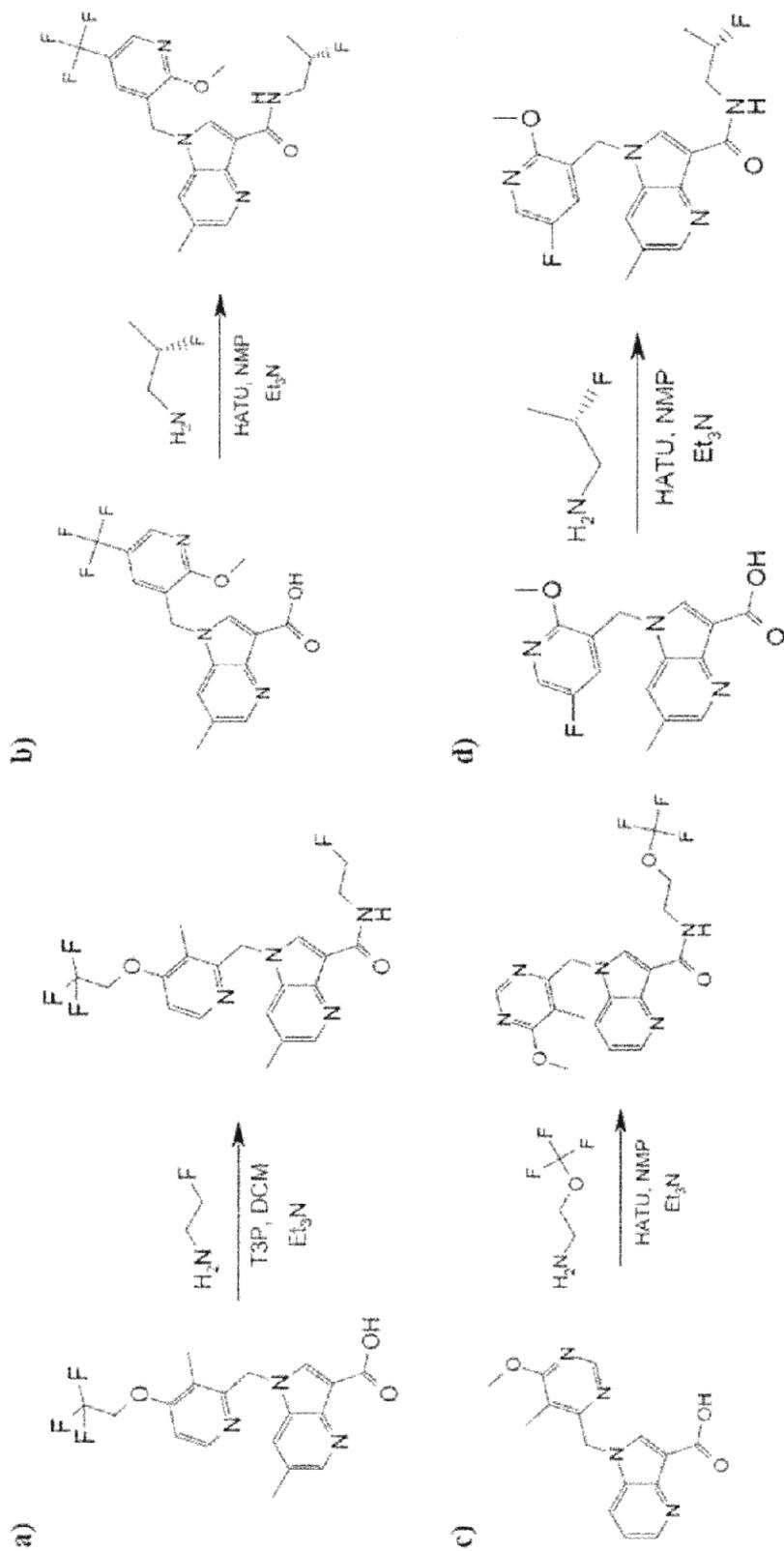


Figura 22

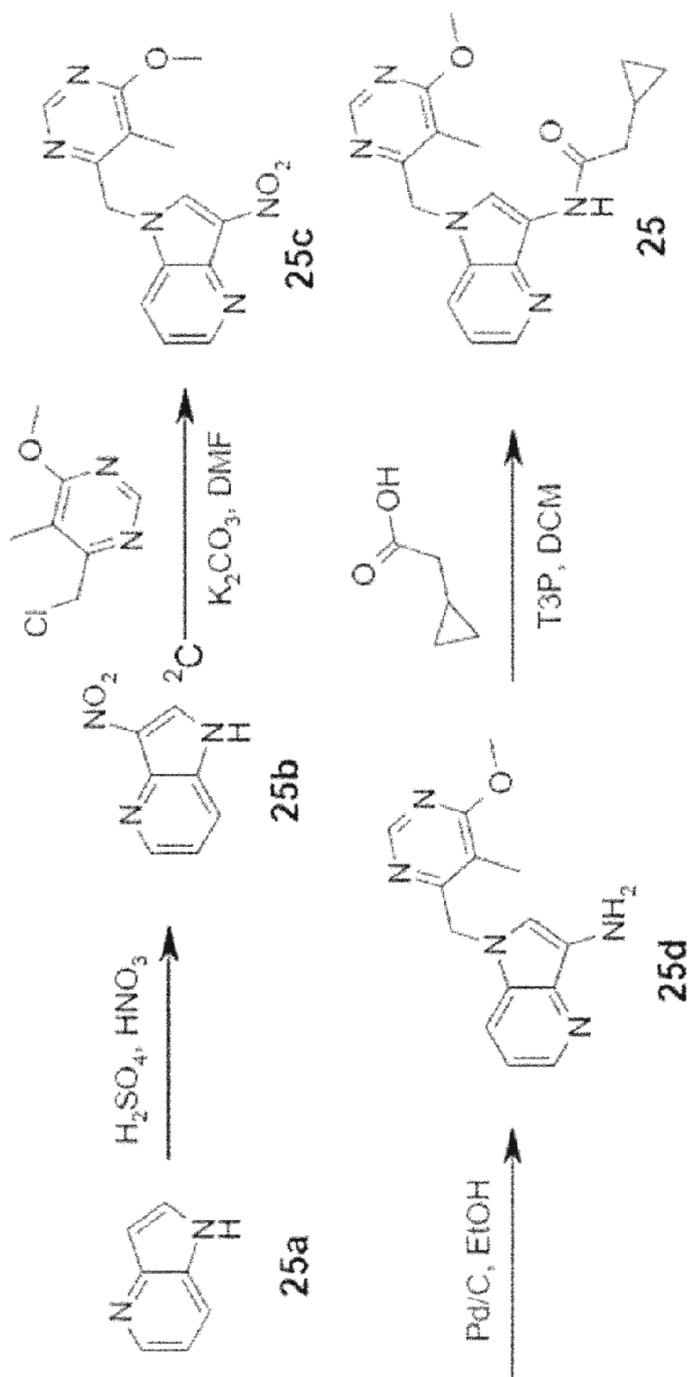


Figure 23

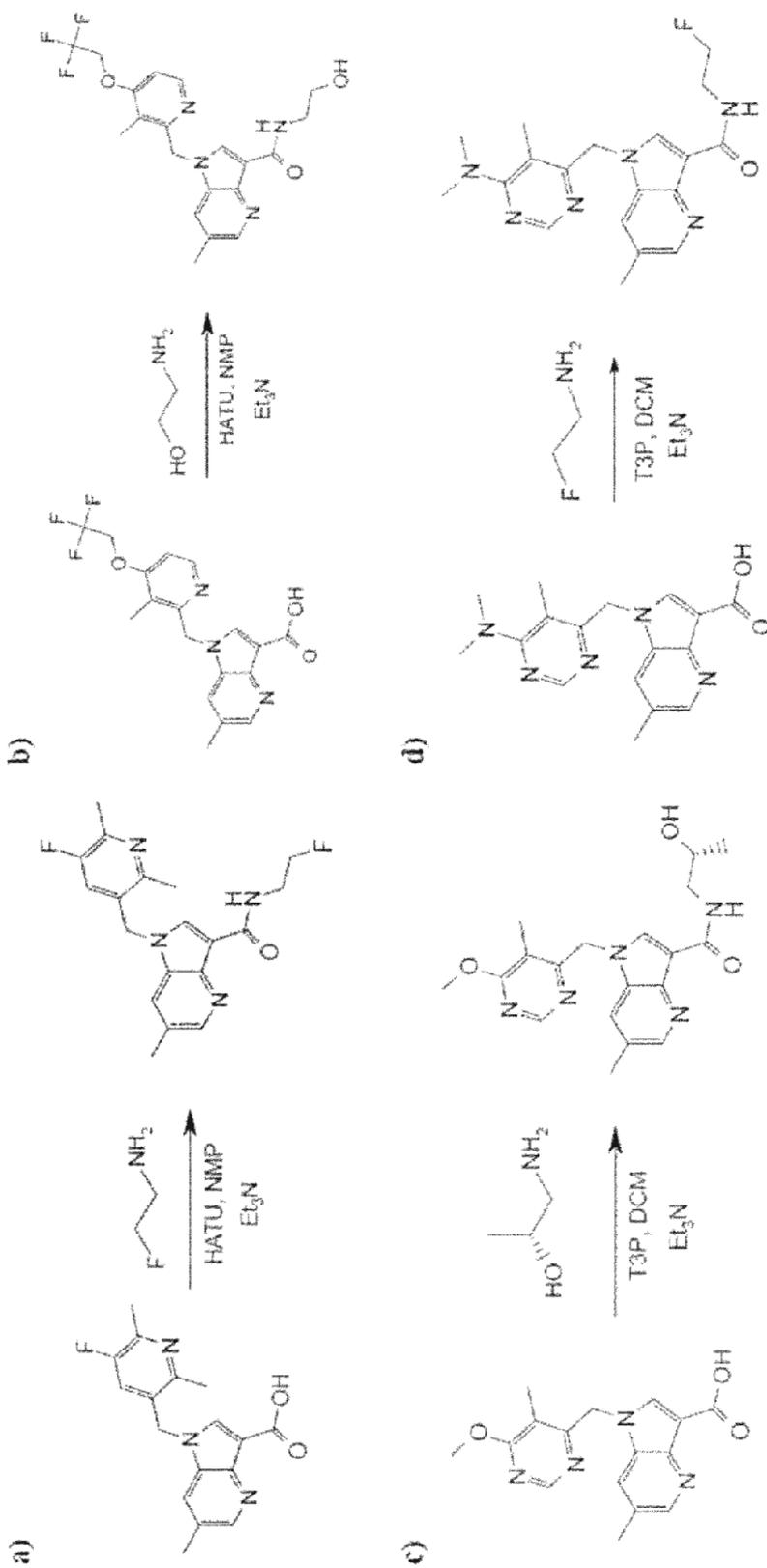


Figura 24

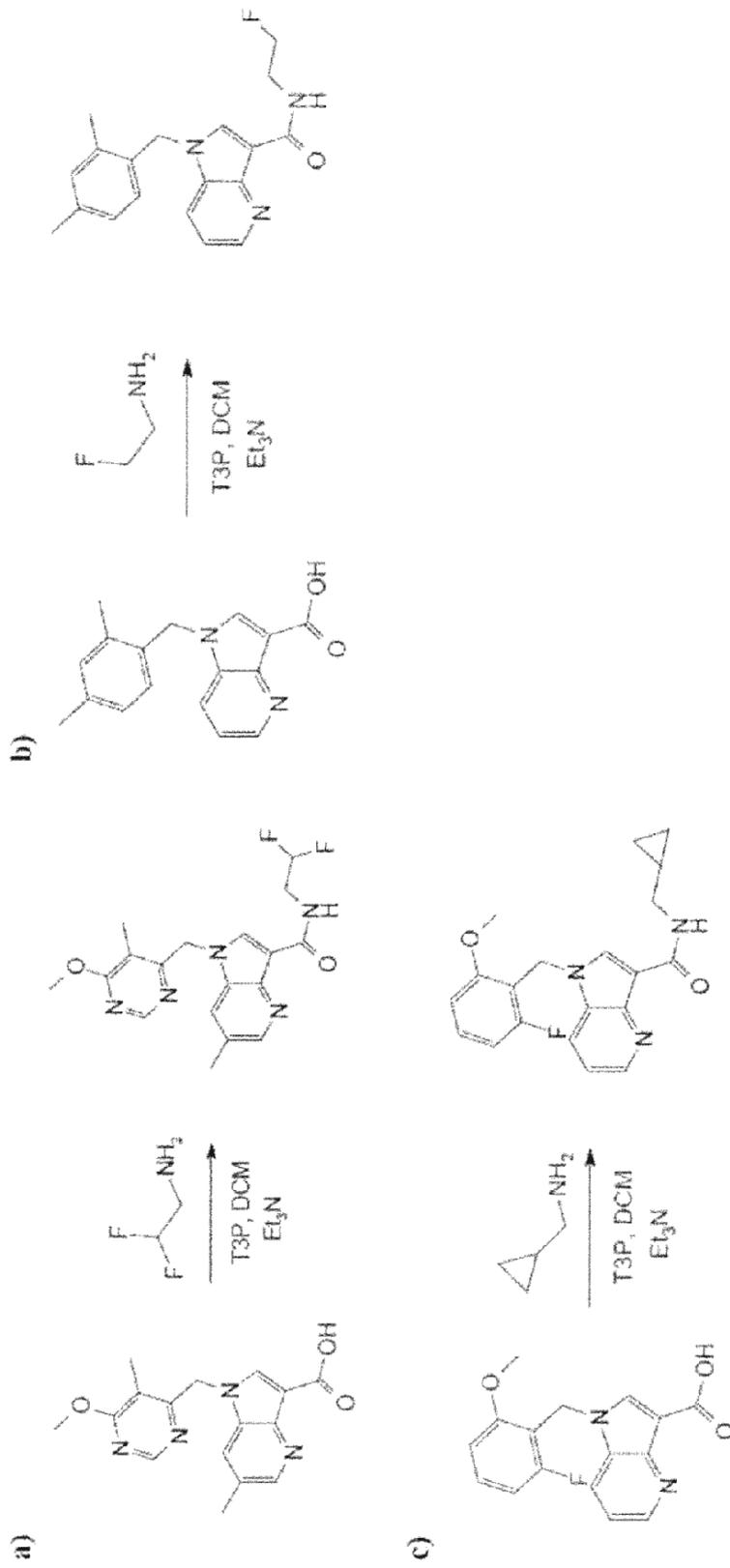


Figure 25

		CIM (µM)													
Compuestas	H37Rv ATCC 27294	Msm ATCC	Msm mc2155	Eco ARC 523	Eco toIC	Hin ARC 446	Hin ARC 158	Pae ARC 545	Pae ARC 546	Kpn ARC 1865	Sau ARC 517	Spn ARC 548	Spn ARC 546	Cal ARC 527	
Compuestas 3	2	6,25	2	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	
Compuestas 4	<0,39	<0,39	<0,39	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>300	>200	
Compuestas 8	<0,39	<0,39	<0,39	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	
Compuestas 17	2	3,125	2	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	
Msm ATCC	<i>Mycobacterium smegmatis</i> 607														
Msm mc ² 155	<i>Mycobacterium smegmatis</i> mc2155														
Eco ARC523	<i>Escherichia coli</i> ARC523														
Eco toIC	<i>Escherichia coli</i> tolC strain (tolC mutante)														
HinARC 446	<i>Haemophilus influenzae</i> ARC446														
HinARC 158	<i>Haemophilus influenzae</i> ARC158 (acrB mutante)														
PaeARC 545	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ARC545														
PaeARC 546	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ARC546 (MexABCDXY mutante)														
KpnARC 1865	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ARC1865														
SauARC 517	<i>Staphylococcus aureus</i> ARC517														
SpnARC 548	<i>Streptococcus pneumoniae</i> ARC548														
SpnARC546	<i>Streptococcus pneumoniae</i> ARC546														
CalARC 527	<i>Candida albicans</i> ARC527														

Figure 26

	Cepas sensibles de <i>M. tuberculosis</i>														StrR		InhR	RifR	
	H37Rv ATCC 27294	Erdman	Beijing (E-47/94)	Harlingen	CDC1551	TN14149	SA161	SA310	DKU-76	DKU-97A	DKU-211	DKU-220	ATCC 35811	ATCC 35820	ATCC 6570	ATCC 35822	ATCC	Rif	
	MIC (µM)																		
Compuesto 3	3,125	3,125	1,56	1,56	1,56	1,56	1,56	3,125	3,125	3,125	3,125	1,56	1,56	3,125	3,125	3,125	3,125	3,125	3,125
Compuesto 4	0,39	0,39	0,78	0,39	0,78	0,78	0,39	0,78	0,39	0,39	0,39	0,78	0,78	0,39	0,39	0,39	0,39	0,39	0,78
Compuesto 8	0,78	0,39	0,39	0,78	0,39	1,56	0,39	0,78	0,78	0,39	0,39	0,78	0,78	0,39	0,39	0,39	0,39	0,39	0,39
Compuesto 17	1,56	1,56	1,56	0,78	0,78	1,56	0,78	1,56	0,78	0,78	0,78	0,39	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78
Estreptomizina	0,34	0,34	0,17	0,17	0,34	0,34	0,34	0,17	0,17	0,17	0,17	0,68	0,34	>5	>5	>5	>5	0,17	0,17
Isoniazida	0,24	0,24	0,24	0,24	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	>29	0,12
Rifampicina	0,015	0,007	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003	>4,8

StrR-resistencia a la estreptomizina

InhR-resistencia a la isoniazida

RifR-resistencia a la rifampicina