

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 647 531**

51 Int. Cl.:

C07D 213/75 (2006.01)
C07D 239/42 (2006.01)
C07D 241/20 (2006.01)
A61K 31/435 (2006.01)
A61K 31/4965 (2006.01)
A61K 31/505 (2006.01)
A61P 3/00 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **25.02.2009 PCT/US2009/035064**
 87 Fecha y número de publicación internacional: **03.09.2009 WO09108657**
 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.02.2009 E 09716006 (3)**
 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.10.2017 EP 2271622**

54 Título: **Derivados de heteroarilo como moduladores de CFTR**

30 Prioridad:

28.02.2008 US 32159 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
22.12.2017

73 Titular/es:

**VERTEX PHARMACEUTICALS INCORPORATED
(100.0%)
130 Waverly Street
Cambridge, MA 02139, US**

72 Inventor/es:

**HADIDA-RUAH, SARA;
MILLER, MARK;
ZHOU, JINGLAN y
BEAR, BRIAN**

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

ES 2 647 531 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).

Derivados de heteroarilo como moduladores de CFTR**Descripción**5 CAMPO TÉCNICO DE LA INVENCION

[0001] La presente invención se refiere a moduladores de transportadores de casete de unión a ATP ("ABC") o fragmentos de los mismos, incluyendo el regulador de conductancia transmembrana de fibrosis quística ("CFTR"), de los mismos, kits de los mismos, y métodos ex vivo. La presente invención también se refiere a compuestos para uso en métodos de tratamiento de enfermedades mediadas por transportadores ABC.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

15 [0002] Los transportadores ABC son una familia de proteínas transportadoras de membrana que regulan el transporte de una amplia variedad de agentes farmacológicos, fármacos potencialmente tóxicos y xenobióticos, así como aniones. Los transportadores ABC son proteínas de membrana homólogas que se unen y usan trifosfato de adenosina celular (ATP) para sus actividades específicas. Algunos de estos transportadores se descubrieron como proteínas de resistencia a múltiples fármacos (como la glicoproteína MDR1-P, o la proteína de resistencia a múltiples fármacos, MRP1), que defienden las células cancerosas malignas contra los agentes quimioterapéuticos. Hasta la fecha, 48 Transportadores ABC se han identificado y agrupado en 7 familias en función de su identidad y función de secuencia.

25 [0003] Transportadores ABC regulan una variedad de funciones fisiológicas importantes dentro del cuerpo y proporcionan una defensa contra compuestos dañinos ambientales. Debido a esto, representan importantes dianas farmacológicas potenciales para el tratamiento de enfermedades asociadas con defectos en el transportador, la prevención del transporte de fármacos fuera de la célula diana y la intervención en otras enfermedades en las que la modulación de la actividad del transportador ABC puede ser beneficiosa.

30 [0004] Un miembro de la familia de transportadores ABC comúnmente asociada con la enfermedad es el canal de aniones mediado por AMPc/ATP, CFTR. CFTR se expresa en una variedad de tipos de células, incluidas las células epiteliales secretoras y de absorción, donde regula el flujo aniónico a través de la membrana, así como la actividad de otros canales iónicos y proteínas. En las células del epitelio, el funcionamiento normal del CFTR es fundamental para el mantenimiento del transporte de electrolitos en todo el cuerpo, incluidos los tejidos respiratorios y digestivos. CFTR está compuesto por aproximadamente 1480 aminoácidos que codifican una proteína compuesta por un repete en tándem de dominios de transmembrana, cada uno con seis hélices de transmembrana y un dominio de unión a nucleótidos. Los dos dominios de transmembrana están unidos por un dominio regulatorio (R) grande y polar con múltiples sitios de fosforilación que regulan la actividad del canal y el tráfico celular.

40 [0005] El gen que codifica CFTR se ha identificado y secuenciado (Véase Gregory, RJ et al (1990) Nature 347: 382-386; Rich, DP et al (1990) Nature 347: 358-362), (Riordan, JR y otros (1989) Science 245: 1066 - 1073). Un defecto en este gen causa mutaciones en CFTR que dan como resultado la Fibrosis Quística ("CF"), la enfermedad genética mortal más común en los seres humanos. La fibrosis quística afecta aproximadamente a uno de cada 2.500 bebés en los Estados Unidos. Dentro de la población general de los Estados Unidos, hasta 10 millones de personas portan una sola copia del gen defectuoso sin aparentes efectos negativos. Por el contrario, las personas con dos copias del gen asociado a la FQ padecen los efectos debilitantes y fatales de la FQ, incluida la enfermedad pulmonar crónica.

50 [0006] En los pacientes con fibrosis quística, las mutaciones en CFTR expresado endógenamente en el epitelio respiratorio conduce a reducción de la secreción de aniones apical causando un desequilibrio en transporte de iones y fluidos. La disminución resultante en el transporte de aniones contribuye a una mayor acumulación de moco en el pulmón y las infecciones microbianas que las acompañan y que finalmente causan la muerte en pacientes con FQ. Además de la enfermedad respiratoria, los pacientes con FQ suelen padecer problemas gastrointestinales e insuficiencia pancreática que, si no se tratan, ocasionan la muerte. Además, la mayoría de los hombres con fibrosis quística son infértiles y la fertilidad disminuye entre las mujeres con fibrosis quística. En contraste con los efectos severos de dos copias del gen asociado a FQ, los individuos con una copia única del gen asociado a FQ exhiben una mayor resistencia al cólera y a la deshidratación resultante de la diarrea, quizás explicando la frecuencia relativamente alta del gen de FQ dentro de la población.

60 [0007] El análisis de secuencia del gen CFTR de cromosomas de CF ha revelado una variedad de mutaciones causantes de enfermedades (corte, GR et al (1990) Nature 346: 366-369; Dean, M. et al (1990) Cell 61: 863: 870 y Kerem, BS et al., (1989) Science 245: 1073 - 1080, Kerem, BS y otros (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87: 8447 - 8451). Hasta la fecha, >1000 mutaciones causantes de enfermedad en el gen de la FQ han sido identificados (<http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/>). La mutación más prevalente es una delección de fenilalanina en la posición 508 de la secuencia de aminoácido CFTR, y se conoce comúnmente como $\Delta F508$ -CFTR. Esta mutación se produce en aproximadamente 70% de los casos de fibrosis quística y se asocia con una enfermedad severa.

65 [0008] La supresión de residuo 508 en $\Delta F508$ -CFTR impide que la proteína naciente se pliegue correctamente. Esto

resulta en la incapacidad de la proteína mutante para salir del retículo endoplásmico ("ER"), y el tráfico a la membrana plasmática. Como resultado, el número de canales presentes en la membrana es mucho menor que el observado en las células que expresan CFTR de tipo salvaje. Además del tráfico deteriorado, la mutación resulta en un canal defectuoso. Conjuntamente, la reducción del número de canales en la membrana y la activación defectuosa conducen a un transporte aniónico reducido a través de los epitelios, lo que produce un transporte defectuoso de iones y fluidos. (Quinton, PM (1990), FASEB J. 4: 2709 - 2727). Estudios han demostrado, sin embargo, que los números reducidos de Δ 508-CFTR en la membrana son funcionales, aunque menos que el CFTR de tipo salvaje. (Dalemans et al (1991), Nature Lond 354: 526-528; Denning et al, supra; Pasyk y Foskett (1995), J. Cell Bioc dobladillo 270: 12347-50). Además de Δ F508-CFTR, otra enfermedad que causa mutaciones en CFTR que resultan en el tráfico defectuoso, síntesis, y/o gating de canal podría regularse hacia arriba o hacia abajo para alterar la secreción de aniones y modificar la progresión de la enfermedad y/o severidad.

[0009] Aunque CFTR transporta una variedad de moléculas, además de aniones, es evidente que este papel (el transporte de aniones) representa un elemento en un importante mecanismo de transporte de iones y agua a través del epitelio. Los otros elementos incluyen el canal epitelial de Na^+ , ENaC, $\text{Na}^+/\text{2Cl}^-/\text{K}^+$ co-transportador de Na^+/K^+ -ATPasa de la bomba y la membrana basolateral de canales K^+ , que son responsables de la absorción de cloruro en la célula.

[0010] Estos elementos trabajan juntos para conseguir el transporte direccional a través del epitelio a través de su expresión selectiva y la localización dentro de la célula. La absorción de cloruro tiene lugar mediante la actividad coordinada de ENaC y RTFQ presentes en la membrana apical y bomba Na^+/K^+ -ATPasa y los canales de Cl^- expresados en la superficie basolateral de la célula. El transporte activo secundario de cloruro desde el lado luminal conduce a la acumulación de cloruro intracelular, que después puede salir pasivamente de la célula a través de canales de Cl^- , dando como resultado un transporte vectorial. La disposición de co-transportador $\text{Na}^+/\text{2Cl}^-/\text{K}^+$, bomba Na^+/K^+ -ATPasa y la canales de membrana basolateral de K^+ en la superficie basolateral y RTFQ en el lado luminal de coordenadas de la secreción de cloruro a través de CFTR en el lado luminal. Debido a que el agua probablemente nunca se transporte activamente, su flujo a través del epitelio depende de pequeños gradientes osmóticos transepiteliales generados por el flujo masivo de sodio y cloruro.

[0011] Además de la fibrosis quística, la modulación de la actividad de CFTR puede ser beneficiosa para otras enfermedades no causadas directamente por mutaciones en CFTR, tales como enfermedades secretoras y otras enfermedades de plegamiento de proteínas mediadas por CFTR. Éstas incluyen, entre otras, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), la enfermedad del ojo seco y el síndrome de Sjögren.

[0012] La EPOC se caracteriza por una limitación del flujo de aire que es progresiva y no completamente reversible. La limitación del flujo de aire se debe a la hipersecreción de moco, enfisema y bronquiolitis. Los activadores de CFTR mutantes o de tipo silvestre ofrecen un tratamiento potencial para la hipersecreción de moco y la depuración mucociliar que es común en la EPOC. Específicamente, el aumento de la secreción de aniones a través del CFTR puede facilitar el transporte de fluidos al líquido de la superficie de las vías respiratorias para hidratar el moco y optimizar la viscosidad del fluido periciliar. Esto llevaría a un aclaramiento mucociliar mejorado y una reducción en los síntomas asociados con la EPOC. La enfermedad del ojo seco se caracteriza por una disminución en la producción acuosa de lágrimas y perfiles anormales de lípidos, proteínas y mucinas en la película lagrimal. Hay muchas causas de ojo seco, algunas de las cuales incluyen la edad, la cirugía ocular Lasik, artritis, medicamentos, quemaduras térmicas/químicas, alergias y enfermedades, tales como la fibrosis quística y síndrome de Sjögren. El aumento de la secreción de aniones a través de CFTR podría mejorar el transporte de fluidos desde las células endoteliales corneales y las glándulas secretoras que rodean el ojo para aumentar la hidratación corneal. Esto ayudaría a aliviar los síntomas asociados con la enfermedad del ojo seco. El síndrome de Sjögren es una enfermedad autoinmune en la que el sistema inmune ataca glándulas productoras de humedad en todo el cuerpo, incluyendo el ojo, la boca, la piel, el tejido respiratorio, el hígado, la vagina y el intestino. Los síntomas incluyen, ojo seco, boca y vagina, además de enfermedad pulmonar. La enfermedad también se asocia con artritis reumatoide, lupus sistémico, esclerosis sistémica y polimiositis/dermatomiositis. Se cree que el tráfico de proteína defectuoso causa la enfermedad, y las opciones de tratamiento son limitadas. Los moduladores de la actividad CFTR pueden hidratar los diversos órganos afectados por la enfermedad y ayudar a elevar los síntomas asociados.

[0013] Tal como se ha discutido anteriormente, se cree que la supresión de residuo 508 en Δ F508-CFTR impide que la proteína naciente se pliegue correctamente, dando como resultado la incapacidad de esta proteína mutante para salir del ER, y el tráfico a la membrana plasmática. Como resultado, cantidades insuficientes de la proteína madura están presentes en la membrana plasmática y se reduce significativamente el transporte de cloruro dentro de los tejidos epiteliales. De hecho, este fenómeno celular del procesamiento ER defectuoso de los transportadores ABC por la maquinaria ER, se ha demostrado que es la base subyacente no solo para la enfermedad de la FQ, sino también para una amplia gama de otras enfermedades aisladas y hereditarias. Las dos formas en que la maquinaria ER puede funcionar mal es por pérdida de acoplamiento a la exportación ER de las proteínas que conducen a la degradación, o por la acumulación de ER de estas proteínas defectuosas/mal plegadas [Aridor M, et al., Nature Med., 5 (7), pp 745 - 751 (1999); Shastry, BS, et al., Neurochem. International, 43, pp 1-7 (2003); Rutishauser, J., et al., Swiss Med Wkly, 132, pp 211 - 222 (2002); Morello, JP et al., TIPS, 21, páginas 466 - 469 (2000); Bross P., et al., Human Mut., 14, pp. 186 - 198 (1999)]. Las enfermedades asociadas con la primera clase de mal funcionamiento

ER son fibrosis quística (debido a $\Delta F508$ -CFTR mal plegada como se discutió anteriormente), enfisema hereditario (debido a al-antitripsina; variantes no Piz), la hemocromatosis hereditaria, deficiencias de coagulación-fibrinólisis, tales como deficiencia de proteína C, angioedema hereditario de tipo 1, las deficiencias de procesamiento de lípidos, tales como hipercolesterolemia familiar, quilomicronemia de tipo 1, abetalipoproteínaemia, enfermedades de almacenamiento lisosomal, tales como I-enfermedad celular/pseudo-Hurler, mucopolisacaridosis (debida a enzimas de procesamiento lisosomal), Sandhof/Tay-Sachs (debido a β -hexosaminidasa), Crigler-Najjar de tipo II (debido a UDP-glucuronil-sialyl-transferasa), poliendocrinopatía/hiperinsulinemia, diabetes mellitus (debido al receptor de insulina), enanismo de Laron (debido a la hormona del crecimiento receptor), deficiencia de mieloperoxidasa, hipoparatiroidismo primario (debido a la hormona preproparatiroidea), melanoma (debido a la tirosinasa). Las enfermedades asociadas con la última clase de mal funcionamiento ER son glucanosis CDG tipo 1, enfisema hereditario (debido a alfa 1-antitripsina (variante PiZ), hipertiroidismo congénito, osteogénesis imperfecta (debido a procolágeno de Tipo I, II, IV), hipofibrinogenemia hereditaria (debido a fibrinógeno), la deficiencia de ACT (debido a la alfa 1-antiquimotripsina), diabetes insípida (DI), DI neurofiseal (debido a vasopressina hormona/receptor V2), DI nefrogénica (debida a la acuaporina II), Síndrome de Charcot-Marie del diente (debido a la proteína de mielina periférica 22), enfermedad de Perliaeus-Merzbacher, enfermedades neurodegenerativas tales como la enfermedad de Alzheimer (debido a β APP y presenilinas), la enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica, parálisis supranuclear progresiva, enfermedad de Pick, varios trastornos neurológicos de la poliglutamina tales como Huntington, ataxia espinocerebelar tipo I, atrofia muscular espinal y bulbar, palidoluisiana dentatorubal, y distrofia miotónica, así como encefalopatías espongiiformes, tales como la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob hereditaria (debido a un defecto de procesamiento de la proteína priónica), la enfermedad de Fabry (debido a α -galactosidasa lisosomal A), síndrome de Straussler-Scheinker, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), enfermedad de ojo seco y síndrome de Sjögren.

[0014] Además de la regulación de la actividad de CFTR, la reducción de la secreción de aniones por moduladores de CFTR puede ser beneficiosa para el tratamiento de las diarreas secretoras, en el que el transporte de agua epitelial se aumenta drásticamente como resultado del transporte de cloruro activado por secretagogo. El mecanismo implica la elevación de AMPc y la estimulación de CFTR.

[0015] Aunque hay numerosas causas de la diarrea, las consecuencias principales de las enfermedades diarreicas, resultantes de transporte de cloruro excesivo son comunes a todas, e incluyen deshidratación, acidosis, alteraciones en el crecimiento y la muerte.

[0016] Las diarreas agudas y crónicas representan un problema médico importante en muchas áreas del mundo. La diarrea es un factor importante en la desnutrición y la principal causa de muerte (5.000.000 muertes/año) en niños menores de cinco años.

[0017] Las diarreas secretoras son también una afección peligrosa en pacientes del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) y la enfermedad inflamatoria crónica del intestino (IBD). Dieciséis millones de viajeros a países en desarrollo de naciones industrializadas desarrollan diarrea cada año, y la gravedad y el número de casos de diarrea varían según el país y el área de viaje.

[0018] La diarrea en animales de establo y mascotas tales como vacas, cerdos y caballos, ovejas, cabras, gatos y perros, es una causa importante de muerte en estos animales. La diarrea puede ser el resultado de cualquier transición importante, como el destete o el movimiento físico, así como en respuesta a una variedad de infecciones bacterianas o virales, y generalmente ocurre dentro de las primeras horas de la vida del animal.

[0019] La bacteria que causa diarrea más común es E-coli (ETEC) enterotoxigénica que tiene el antígeno K99 pilus. Las causas virales comunes de diarrea incluyen rotavirus y coronavirus. Otros agentes infecciosos incluyen criptosporidio, giardia lamblia y salmonella, entre otros.

[0020] Los síntomas de la infección por rotavirus incluyen la excreción de heces acuosas, deshidratación y debilidad. El coronavirus causa una enfermedad más grave en los animales recién nacidos y tiene una tasa de mortalidad más alta que la infección por rotavirus. A menudo, sin embargo, un animal joven puede estar infectado con más de un virus o con una combinación de microorganismos virales y bacterianos a la vez. Esto aumenta drásticamente la gravedad de la enfermedad.

[0021] Por consiguiente, existe una necesidad de moduladores de una actividad del transportador ABC, y composiciones de los mismos, que se puede utilizar para modular la actividad del transportador ABC en la membrana celular de un mamífero.

[0022] Hay una necesidad de métodos de tratamiento de enfermedades mediadas por transportador ABC utilizando dichos moduladores de actividad del transportador ABC.

[0023] Hay una necesidad de métodos para modular una actividad del transportador ABC en una membrana celular ex vivo de un mamífero.

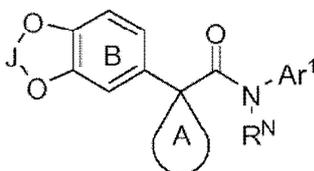
[0024] Existe una necesidad de moduladores de actividad CFTR que se puedan usar para modular la actividad de CFTR en la célula membrana de un mamífero.

[0025] Existe una necesidad de métodos para tratar enfermedades mediadas por CFTR usando tales moduladores de actividad CFTR.

[0026] Hay una necesidad de métodos para modular la actividad de CFTR en una membrana celular *ex vivo* de un mamífero. WO 2005/075435 A1 se refiere a moduladores de transportadores de casete de unión a ATP ("ABC") o fragmentos de los mismos, que incluyen el regulador de conductancia transmembrana de la fibrosis quística ("CFTR"), las composiciones de los mismos y los procedimientos con los mismos. Los documentos WO 2007/056341 A1 y WO 2007/117715 A2 describen compuestos, y composiciones farmacéuticamente aceptables de los mismos, que se dice que son útiles como moduladores de transportadores de casete de unión a ATP ("ABC"), o fragmentos del mismo, incluido el regulador de conductancia transmembrana de fibrosis quística ("CFTR").

RESUMEN DE LA INVENCION

[0027] Ahora se ha encontrado que los compuestos de esta invención, y composiciones farmacéuticamente aceptables de los mismos, son útiles como moduladores de la actividad del transportador ABC, en particular la actividad de CFTR. Estos compuestos tienen la fórmula general I:



I

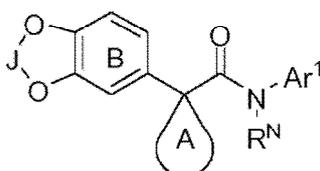
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que Ar^1 , R^N , el anillo A, el anillo B, y J se describen a continuación.

[0028] Estos compuestos y composiciones farmacéuticamente aceptables son útiles para tratar o disminuir la severidad de una variedad de enfermedades, trastornos o condiciones, incluyendo, pero no limitado a, fibrosis quística, enfisema hereditario, hemocromatosis hereditaria, deficiencias de la coagulación-fibrinólisis, como deficiencia de proteína C, angioedema hereditario de tipo 1, deficiencias de procesamiento de lípidos, como hipercolesterolemia familiar, quilomicronemia tipo 1, abetalipoproteínaemia, enfermedades de almacenamiento lisosomal, como enfermedad de células I/pseudo-Hurler, mucopolisacaridosis, Sandhof/Tay-Sachs, Crigler-Najjar tipo II, poliendocrinopatía/hiperinsulinemia, diabetes mellitus, enanismo lanero, deficiencia de mieloperoxidasa, hipoparatiroidismo primario, melanoma, glicanosis CDG tipo 1, enfisema hereditario, hipotiroidismo congénito, osteogénesis imperfecta, hipofibrinogenemia hereditaria, deficiencia de ACT, diabetes insípida (di), neurofilaxia di, neprogénica DI, síndrome de Charcot-Marie Tooth, enfermedad de Perlizaeus-Merzbacher, enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica, plasma supranuclear progresivo, enfermedad de Pick, varios trastornos neurológicos de la poliglutamina como Huntington, ataxia espinocerebular tipo I, atrofia muscular espinal y bulbar, pallidoluysio dentatorubal y distrofia miotónica, así como encefalopatías espongiiformes, tales como la enfermedad hereditaria de Creutzfeldt-Jakob, enfermedad de Fabry, síndrome de Straussler-Scheinker, EPOC, enfermedad del ojo seco, y enfermedad de Sjögren.

DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

Descripción general de los compuestos de la invención:

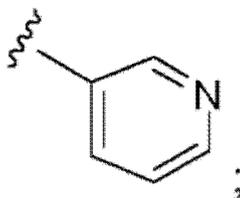
[0029] En un aspecto, la presente invención se refiere a compuestos de fórmula I:



I

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

Ar¹ es:



Ar¹ está opcionalmente sustituido con apariciones w de -W-R^w; donde

W es independientemente una cadena de alquilideno (C1-C6) opcionalmente sustituida en la que hasta dos unidades de metileno de W están sustituidas independientemente con -CO-, -O-, -S-, -SO₂-, o -NR¹-;

R' es independientemente H, alquilo, arilo, heteroarilo, aralquilo, cicloalquilo o heterocicloalquilo; y

R^w es independientemente H, halo, CN, NO₂, NH₂, CF₃, OCF₃, OH, alcoxi, o un grupo alifático opcionalmente sustituido, cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo, o heteroarilo, en el que, cuando está sustituido, está sustituido R^w con hasta dos R²;

R² es halo, CN, NO₂, CF₃, OCF₃, O, -(C1-C6)alquilideno-OH, -(C1-C6)alquilideno-N(R)₂, OC(O)R, OC(O)N(R)₂, SR, S(O)R, SO₂R, SO₂N(R)₂, SO₃R, C(O)R, CO₂R, C(O)N(R)₂, N(R)₂, NRC(O)R, NRCO₂R, NRC(O)N(R)₂, NRSO₂R, B(OR)₂, o NRSO₂N(R)₂

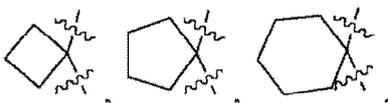
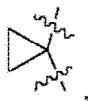
R es independientemente H, alquilo, cicloalquilo, heterociclo, arilo o heteroarilo;

R^N es H, alquilo, arilo, heteroarilo, aralquilo, cicloalquilo, o heterocicloalquilo;

A es un anillo monocíclico de 3-7 miembros opcionalmente sustituidos;

B está opcionalmente condensado a un anillo de 5-7 miembros seleccionado del grupo que consiste en cicloalifático, arilo, heterociclo y heteroarilo;

J se selecciona del grupo que consiste en CH₂, CF₂, C(CH₃)₂, C(O),



C(Fenilo)₂, B(OH)y CH(OEt); y

w es un número entero de 0 a 5 inclusive;

Compuestos y Definiciones:

[0030] Los compuestos de esta invención incluyen los descritos en general anteriormente, y se ilustran adicionalmente mediante las clases, subclases, y especies descritas aquí. Como se usa en el presente documento, se aplicarán las siguientes definiciones a menos que se indique lo contrario.

[0031] El término "transportador ABC" como se usa en este documento significa una proteína ABC-transportador o un fragmento del mismo que comprende al menos un dominio de unión, donde dicha proteína o fragmento de la misma está presente *in vivo* o *in vitro*. El término "dominio de unión" como se usa en el presente documento significa un dominio en el transportador ABC que puede unirse a un modulador. Véase, por ejemplo, Hwang, TC et al., J. Gen. Physiol. (1998): 111 (3), 477 - 90.

[0032] El término "CFTR" como se utiliza aquí significa regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística o una mutación del mismo capaz de regular de la actividad, incluyendo, pero no limitado a, $\Delta F508$ CFTR y G551D CFTR (véase, por ejemplo, <http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/>, para mutaciones CFTR).

[0033] El término "modular" como se usa en la presente memoria significa aumentar o disminuir en una cantidad medible.

[0034] Para los fines de esta invención, los elementos químicos se identifican de acuerdo con la Periodic Table of the Elements, versión CAS, Handbook of Chemistry and Physics, 75ª ed. Además, los principios generales de la química orgánica se describen en "Organic Chemistry", Thomas Sorrell, University Science Books, Sausalito: 1999, y "March's Advanced Organic Chemistry", 5ª edición, Ed.: Smith, MB y March, J., John Wiley & Sons, Nueva York: 2001.

[0035] Como se describe en el presente documento, los compuestos de la invención pueden estar opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes, tales como se ilustran en general anteriormente, o como se ejemplifica por las clases, subclases, y especies de la invención. Se apreciará que la frase "opcionalmente sustituido" se usa de forma intercambiable con la frase "sustituido o no sustituido". En general, el término "sustituido", ya sea precedido por el término "opcionalmente" o no, se refiere a la sustitución de radicales de hidrógeno en una estructura dada con el radical de un sustituyente específico. A menos que se indique lo contrario, un grupo opcionalmente sustituido puede tener un sustituyente en cada posición sustituible del grupo, y cuando más de una posición en cualquier estructura dada puede estar sustituida con más de un sustituyente seleccionado de un grupo específico, el sustituyente puede ser igual o diferente en cada posición. Las combinaciones de sustituyentes previstas por esta invención son preferiblemente aquellas que dan como resultado la formación de compuestos estables o químicamente viables. El término "estable", como se usa en el presente documento, se refiere a compuestos que no se alteran sustancialmente cuando se someten a condiciones para permitir su producción, detección, y preferiblemente su recuperación, purificación y uso para uno o más de los propósitos descritos aquí. En algunas realizaciones, un compuesto estable o un compuesto químicamente factible es uno que no se altera sustancialmente cuando se mantiene a una temperatura de 40°C o menos, en ausencia de humedad u otras condiciones químicamente reactivas, durante al menos una semana.

[0036] El término "alifático" o "grupo alifático", como se usa aquí, significa una cadena lineal (es decir, no ramificada) o ramificada, sustituida o no sustituida de cadena de hidrocarburo que está completamente saturado o que contiene una o más unidades de no saturación, o un hidrocarburo monocíclico o hidrocarburo bicíclico que está completamente saturado o que contiene una o más unidades de insaturación, pero que no es aromático (también denominado en el presente documento "carbociclo", "cicloalifático" o "cicloalquilo"), que tiene un único punto de unión al resto de la molécula. A menos que se especifique lo contrario, los grupos alifáticos contienen 1-20 átomos de carbono alifáticos. En algunas realizaciones, los grupos alifáticos contienen 1-10 átomos de carbono alifáticos. En otras realizaciones, los grupos alifáticos contienen 1-8 átomos de carbono alifáticos. En aún otras realizaciones, grupos alifáticos contienen 1-6 átomos de carbono alifáticos, y en otras realizaciones más, los grupos alifáticos contienen 1-4 átomos de carbono alifáticos. En algunas realizaciones, "cicloalifático" (o "carbociclo" o "cicloalquilo") se refiere a un anillo monocíclico de C₃-C₈ átomos de hidrocarburo o hidrocarburo C₈-C₁₂ bicíclico que está completamente saturado o que contiene una o más unidades de insaturación, pero que no es aromático, que tiene un único punto de unión al resto de la molécula en el que cualquier anillo individual en dicho sistema de anillo bicíclico tiene 3-7 miembros. Los grupos alifáticos adecuados incluyen, pero sin limitación, grupos alquilo, alqueno, alquino lineales o ramificados, sustituidos o no sustituidos e híbridos de los mismos tales como (cicloalquilo)alquilo, (cicloalqueno)alquilo o (cicloalquino)alquilo.

[0037] El término "heteroalifático", como se usa en el presente documento, significa grupos alifáticos en los que uno o dos átomos de carbono están reemplazados independientemente por uno o más de oxígeno, azufre, nitrógeno, fósforo, o silicio. Los grupos heteroalifáticos pueden estar sustituidos o no sustituidos, ramificados o no ramificados, cíclicos o acíclicos, e incluyen grupos "heterocicloalquilo", "heterociclilo", "heterocicloalifático" o "heterocíclico".

[0038] El término "heterocicloalquilo", "heterociclilo", "heterocicloalifático", o "heterocíclico" como se usa en la presente memoria significa sistemas de anillos no aromáticos, monocíclicos, bicíclicos, o tricíclicos en los que uno o una pluralidad de miembros de anillo es un heteroátomo seleccionado independientemente. En algunas realizaciones, el grupo "heterocicloalquilo", "heterociclilo", "heterocicloalifático" o "heterocíclico" tiene de tres a catorce miembros de anillo en los que uno o más miembros de anillo es un heteroátomo seleccionado independientemente del grupo que consiste en oxígeno, azufre, nitrógeno y fósforo, y cada anillo en el sistema contiene de 3 a 7 miembros del anillo.

[0039] El término "heteroátomo" significa uno o más de boro, oxígeno, azufre, nitrógeno, fósforo, o silicio (incluyendo, cualquier forma oxidada de nitrógeno, azufre, fósforo, o silicio; la forma cuaternizada de cualquier nitrógeno básico o; un nitrógeno sustituible de un anillo heterocíclico, por ejemplo N(Como en *3,4-dihidro-2H-pirrolilo*), NH (como en pirrolidinilo) o NR⁺ (como en pirrolidinilo N-sustituido)).

[0040] El término "insaturado", como se usa en este documento, significa que un resto tiene una o más unidades de insaturación.

[0041] El término "alcoxi" o "tioalquilo", como se usa en la presente memoria, se refiere a un grupo alquilo, como se definió previamente, unido a cadena de carbono principal a través de un átomo de oxígeno ("alcoxi") o azufre ("tioalquilo").

[0042] Los términos "haloalifático" y "haloalcoxi" significa alifático o alcoxi, según puede ser el caso, sustituido con uno o más átomos de halógeno. El término "halógeno" significa F, Cl, Br, o I. Los ejemplos de haloalifático incluyen -CHF₂, -CH₂-F, -CF₃, -CF₂-, o perhaloalquilo, tal como, -CF₂CF₃.

[0043] El término "arilo" usado solo o como parte de un resto mayor como en "aralquilo", "aralcoxi" o "ariloxialquilo", se refiere a sistemas anulares monocíclicos, bicíclicos, y tricíclicos que tienen un total de cinco a catorce anillo miembros, en los que al menos un anillo en el sistema es aromático y en el que cada anillo en el sistema contiene de 3 a 7 miembros de anillo. El término "arilo" puede usarse indistintamente con el término "anillo de arilo". El término "arilo" también se refiere a sistemas de anillo de heteroarilo como se define en el presente documento a continuación.

[0044] El término "heteroarilo", usado solo o como parte de un resto mayor como en "heteroaralquilo" o "heteroarilalcoxi", se refiere a sistemas anulares monocíclicos, bicíclicos, y tricíclicos que tienen un total de cinco a catorce miembros de anillo, en donde al menos un anillo en el sistema es aromático, al menos un anillo en el sistema contiene uno o más heteroátomos, y en el que cada anillo en el sistema contiene de 3 a 7 miembros del anillo. El término "heteroarilo" puede usarse indistintamente con el término "anillo heteroarilo" o el término "heteroaromático".

[0045] Un grupo arilo (incluyendo aralquilo, aralcoxi, ariloxialquilo y similares) o heteroarilo (incluyendo heteroaralquilo y heteroarilalcoxi y similares) puede contener uno o más sustituyentes. Los sustituyentes adecuados en el átomo de carbono insaturado de un grupo arilo o heteroarilo se seleccionan del grupo que consiste en halógeno; -R^o; -O; -SR^o; 1,2-metilenodioxido; 1,2-etilendioxo; fenilo (Ph) opcionalmente sustituido con R^o; -O (Ph) opcionalmente sustituido con R^o; -(CH₂)₁₋₂(Ph), opcionalmente sustituido con R^o; -CH = CH (Ph), opcionalmente sustituido con R^o; -NO₂-CN; -N(R^o)₂; -NR^oC(O)R^o; -NR^oC(O)N(R^o)₂; -NR^oCO₂R^o; -NR^oNR^oC(O)R^o; -NR^oNR^oC(O)N(R^o)₂; -NR^oNR^oCO₂R^o; -C(O)C(O)R^o; -C(O)CH₂C(O)R^o; -CO₂R^o; -C(O)R^o; -C(O)N(R^o)₂; -OC(O)N(R^o)₂; -S(O)₂R^o; -SO₂N(R^o)₂; -S(O)R^o; -NR^oSO₂N(R^o)₂; -NR^oSO₂R^o; -C(=S)N(R^o)₂; -C(=NH)-N(R^o)₂; y -(CH₂)₀₋₂NHC(O)R^o en donde cada aparición independiente de R^o se selecciona entre el grupo que consiste en hidrógeno, opcionalmente sustituido C₁₋₆ alifático, un anillo no sustituido heteroarilo de 5-6 miembros o un anillo heterocíclico, fenilo, -O(Ph), y -CH₂(Ph), o, no obstante la definición anterior, dos apariciones independientes de R^o, en el mismo sustituyente o sustituyentes diferentes, tomados junto con el átomo al que cada R^o se une, forma un anillo cicloalquilo, heterocíclico, arilo o heteroarilo de 3-8 miembros que tiene 0-3 heteroátomos seleccionados independientemente del grupo que consiste en nitrógeno, oxígeno y azufre. Los sustituyentes opcionales en el grupo alifático de R^o se seleccionan del grupo que consiste en NH₂, NH(C₁₋₄alifático), N(C₁₋₄alifático)₂, halógeno, C₁₋₄alifático, OH, O (C₁₋₄alifático), NO₂, CN, CO₂H, CO₂ (C₁₋₄ alifático), O(haloC₁₋₄ alifático), y haloC₁₋₄ alifático, en el que cada uno de los anteriores grupos C₁₋₄alifáticos de R^o no está sustituido.

[0046] Un grupo alifático o heteroalifático o un anillo heterocíclico no aromático, o pueden contener uno o más sustituyentes. Los sustituyentes adecuados en el carbono saturado de un grupo alifático o heteroalifático, o de un anillo heterocíclico no aromático se seleccionan del grupo que consiste en los enumerados anteriormente para el carbono insaturado de un grupo arilo o heteroarilo y adicionalmente incluyen los siguientes: = O, = S, = NNHR⁺, = NN(R⁺)₂, =NNHC(O)R⁺, =NNHCO₂(alquilo), =NNHSO₂(alquilo), y =NR⁺, donde cada R⁺ se selecciona independientemente del grupo que consiste en hidrógeno y un

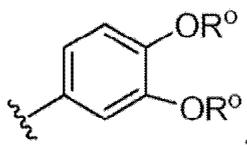
C₁₋₆ alifático opcionalmente sustituido. Los sustituyentes opcionales en el grupo alifático de R⁺ se seleccionan del grupo que consiste en NH₂, NH(C₁₋₄alifático), N(C₁₋₄alifático)₂, halógeno, C₁₋₄alifático, OH, O(C₁₋₄alifático), NO₂, CN, CO₂H, CO₂ (C₁₋₄alifático), O(halo C₁₋₄alifático), y halo(C₁₋₄alifático), en el que cada uno de los grupos anteriores C₁₋₄alifáticos de R⁺ no está sustituido.

[0047] Los sustituyentes opcionales en el nitrógeno de un anillo heterocíclico no aromático se seleccionan del grupo que consiste de -R⁺, -N(R⁺)₂, -C(O)R⁺, -CO₂R⁺, -C(O)C(O)R⁺, -C(O)CH₂C(O)R⁺, -SO₂R⁺, -SO₂N(R⁺)₂, -C(=S)N(R⁺)₂, -C(=NH)-N(R⁺)₂, y -NR⁺ SO₂R⁺; en donde R⁺ es hidrógeno, un opcionalmente sustituido C₁₋₆ alifático, fenilo opcionalmente sustituido, -O(Ph) opcionalmente sustituido, -CH₂(Ph) opcionalmente sustituido, -(CH₂)₁₋₂(Ph) opcionalmente sustituido; -CH = CH (Ph) opcionalmente sustituido; o un heteroarilo de 5-6 miembros no sustituido o un anillo heterocíclico que tiene de uno a cuatro heteroátomos seleccionados de forma independiente del grupo que consiste de oxígeno, nitrógeno, y azufre, o, no obstante la definición anterior, dos apariciones independientes de R⁺,

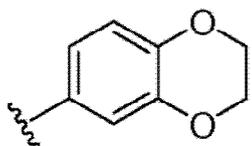
en el mismo sustituyente o sustituyentes diferentes, tomados junto con el átomo al que está enlazado cada uno de grupo R⁺, forman un heterociclilo, arilo, o heteroarilo de 3-8 miembros cicloalquilo que tiene 0-3 heteroátomos seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en nitrógeno, oxígeno y azufre. Los sustituyentes opcionales en el grupo alifático o el anillo fenilo de R⁺ se seleccionan del grupo que consiste en NH₂, NH(C₁₋₄ alifático), N(C₁₋₄ alifático)₂, halógeno, C₁₋₄ alifático, OH, O (C₁₋₄ alifático), NO₂, CN, CO₂H, CO₂ (C₁₋₄ alifático), O(halo C₁₋₄ alifático), y halo (C₁₋₄ alifático), en el que cada uno de los anteriores grupos C₁₋₄ alifático de R⁺ no está sustituido.

[0048] El término "cadena de alquilideno" se refiere a una cadena de carbono lineal o ramificada que puede estar completamente saturada o tener una o más unidades de insaturación y tiene dos puntos de unión al resto de la molécula. El término "espirocicloalquilideno" se refiere a un anillo carbocíclico que puede estar completamente saturado o tener una o más unidades de insaturación y tiene dos puntos de unión desde el mismo átomo de carbono del anillo al resto de la molécula.

[0049] Como se ha detallado anteriormente, en algunas realizaciones, dos apariciones independientes de R^o (o R⁺, o cualquier otra variable definida de forma similar en el presente documento), se toman junto con el átomo al que está unida cada variable para formar un anillo de cicloalquilo, heterociclilo, arilo o heteroarilo de de 3 a 8 miembros que tiene 0-3 heteroátomos seleccionados independientemente del grupo que consiste en nitrógeno, oxígeno y azufre. Los anillos ilustrativos que se forman cuando se toman dos apariciones independientes de R^o (o R⁺, o cualquier otra variable definida de manera similar en el presente documento) junto con el átomo al que cada variable está unida incluyen, pero no están limitados a lo siguiente: a) dos apariciones independientes de R^o (o R⁺, o cualquier otra variable definida de manera similar en el presente documento) que están unidos al mismo átomo y se toman junto con ese átomo para formar un anillo, por ejemplo, N(R^o)₂, donde ambas apariciones de R^o se toman junto con el átomo de nitrógeno para formar un grupo piperidina-1-ilo, piperazina-1-ilo, o morfolina-4-ilo; y b) dos apariciones independientes de R^o (o R⁺, o cualquier otra variable definida de manera similar en el presente documento) que están unidas a diferentes átomos y se toman conjuntamente con ambos de estos átomos para formar un anillo, por ejemplo, cuando se sustituye un grupo fenilo con dos apariciones de OR^o



estas dos apariciones de R^o se toman junto con los átomos de oxígeno a los que están destinados para formar un anillo fusionado de 6 miembros que contiene oxígeno:



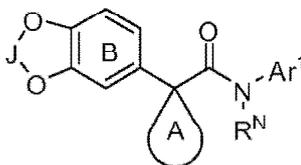
Se apreciará que una variedad de otros anillos se puede formar cuando se toman dos apariciones independientes de R^o (o R⁺, o cualquier otra variable definida de manera similar en el presente documento) junto con el átomo al que cada variable está unida y que los ejemplos detallados anteriormente no pretenden ser limitantes.

[0050] A menos que se indique otra cosa, las estructuras representadas en este documento también pretenden incluir todas las formas isoméricas (por ejemplo, enantioméricas, diastereoméricas, y geométricas (o conformacionales)) de la estructura; por ejemplo, las configuraciones R y S para cada centro asimétrico, los isómeros de doble enlace (Z) y (E) y los isómeros conformacionales (Z) y (E). Por lo tanto, los isómeros estereoquímicos individuales así como las mezclas enantioméricas, diastereoméricas y geométricas (o conformacionales) de los presentes compuestos están dentro del alcance de la invención. A menos que se indique lo contrario, todas las formas tautoméricas de los compuestos de la invención están dentro del alcance de la invención. Además, a menos que se indique lo contrario, las estructuras representadas en este documento también incluyen compuestos que difieren solo en la presencia de uno o más átomos isotópicamente enriquecidos. Por ejemplo, compuestos que tienen las presentes estructuras excepto por la sustitución de hidrógeno por deuterio o tritio, o el reemplazo de un carbono por un carbono enriquecido por ¹³C- o ¹⁴C están dentro del alcance de esta invención. Tales compuestos son útiles, por ejemplo, como herramientas analíticas o sondas en ensayos biológicos.

Descripción de compuestos ejemplares

[0051] En una realización, la presente invención se refiere a compuestos de fórmula I:

5



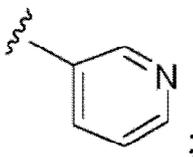
10

I

15 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

Ar¹ es:

20



25

Ar¹ está opcionalmente sustituido con w apariciones de -W-R^W; donde

30

W es independientemente una cadena de alquilideno (C1-C6) opcionalmente sustituida en la que hasta dos unidades de metileno de W están sustituidas independientemente con -CO-, -O-, -S-, -SO₂-, o -NR¹-;

R' es independientemente H, alquilo, arilo, heteroarilo, aralquilo, cicloalquilo o heterocicloalquilo; y

35

R^W es independientemente H, halo, CN, NO₂, NH₂, CF₃, OCF₃, OH, alcoxi, o un grupo alifático opcionalmente sustituido, cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo, o heteroarilo, en el que, cuando está sustituido, está sustituido R^W con hasta dos R₂;

40

R² s halo, CN, NO₂, CF₃, OCF₃, O, -(C1-C6)alquilideno-OH, -(C1-C6)alquilideno-N(R)₂, OC(O)R, OC(O)N(R)₂, SR, S(O)R, SO₂R, SO₂N(R)₂, SO₃R, C(O)R, CO₂R, C(O)N(R)₂, N(R)₂, NRC(O)R, NRCO₂R, NRC(O)N(R)₂, NRSO₂R, B(OH)₂, o NRSO₂N(R)₂;

R es independientemente H, alquilo, cicloalquilo, heterociclo, arilo o heteroarilo;

45

R^N es H, alquilo, arilo, heteroarilo, aralquilo, cicloalquilo, o heterocicloalquilo;

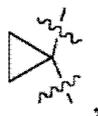
A es un anillo monocíclico de 3-7 miembros opcionalmente sustituido;

50

B está opcionalmente condensado a un anillo de 5-7 miembros seleccionado del grupo que consiste en cicloalifático, arilo, heterociclo y heteroarilo;

J se selecciona del grupo que consiste en CH₂, CF₂, C(CH₃)₂, C(O),

55



60

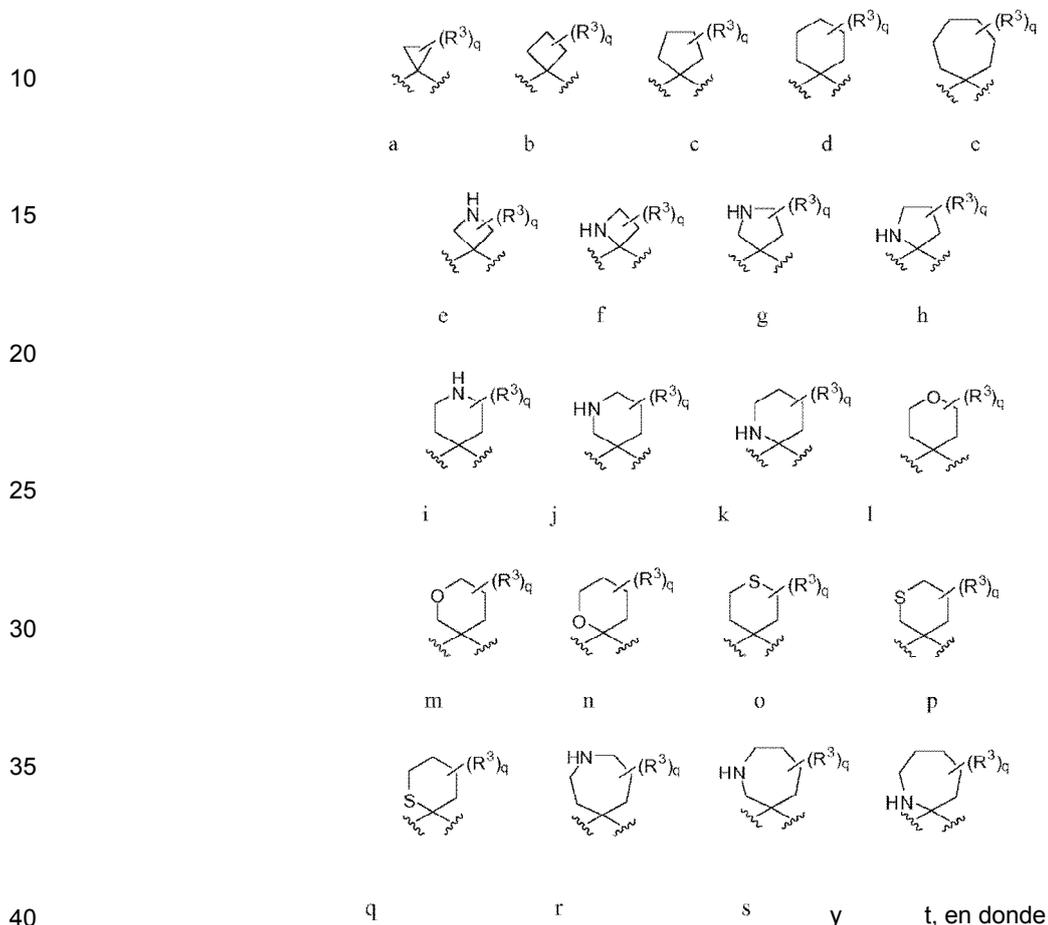


65

C(fenilo)₂, B(OH) y CH(OEt); y

w es un número entero de 0 a 5 inclusive;

5 **[0052]** En otra realización, la presente invención se refiere a compuestos de fórmula I y las definiciones adjuntas, en donde A se selecciona del grupo que consiste en:



45 **[0053]** R³ es alquilo, alquilarilo, arilo, o heteroarilo; y q es un número entero de 0 a 4 inclusive. En otra realización, A es



En otra realización, A es



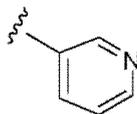
60 **[0054]** En otra realización, la presente invención se refiere a compuestos de las definiciones adjuntas fórmula I y, en el que J es CH₂. En otra realización, J es CF₂.

65 **[0055]** En otra realización, la presente invención se refiere a compuestos de fórmula I y las definiciones adjuntas, en donde R^N es H, arilo, o heteroarilo. En otra realización, R^N es H o heteroarilo. En otra realización, R^N es heteroarilo. En otra realización, R^N es H.

[0056] En otro ejemplo, descritos en este documento son los compuestos de fórmula I y las definiciones adjuntas, en las que Ar¹ se fusiona a un anillo monocíclico de 5-7 miembros o anillo bicíclico de 9-11 seleccionado del grupo que consiste en cicloalifático, arilo, heterocíclico, y heteroarilo.

5 **[0057]** En otra realización, la presente invención se refiere a compuestos de fórmula I y las definiciones adjuntas, en donde Ar¹ opcionalmente sustituido es

10



15 **[0058]** En otra realización, la presente invención se refiere a compuestos de fórmula I y las definiciones adjuntas, en la que w es 0. En otra realización, w es 1. En otra realización, w es 2.

[0059] En otra realización, w es una cadena alquilideno (C1-C6) opcionalmente sustituido. En otra realización, W es -CH₂-. En otra realización, W es -NH-. En otra realización, W es -O-. En otra realización, W es -SO₂-.

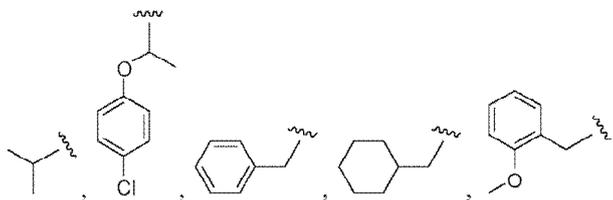
20 **[0060]** En otra realización, la presente invención se refiere a compuestos de fórmula I y las definiciones adjuntas, en donde R^W es H. En otra realización, R^W es OH. En otra realización, R^W es arilo. En otra realización, R^W es fenilo. En otra realización, R^W es heteroarilo. En otra realización, R^W es piridilo. En otra realización, R^W es alcoxi. En otra realización, R^W es metoxi. En otra realización, R^W es trifluorometoxi. En otra realización, R^W es cicloalquilo. En otra realización, R^W es ciclohexilo. En otra realización, R^W es heterocicloalquilo. En otra realización, R^W es heterocicloalquilo insaturado. En otra realización, R^W es piridona. En otra realización, R^W es -(C1-C6)alquilideno-N(R)₂. En otra realización, R^W es -(C1-C6)alquilideno-OH. En otra realización, R^W es -CH₂OH.

25 **[0061]** En otra realización, la presente invención se refiere a compuestos de fórmula I y las definiciones adjuntas, en las que Ar¹ está sustituido con un -W-R^W acíclico.

30

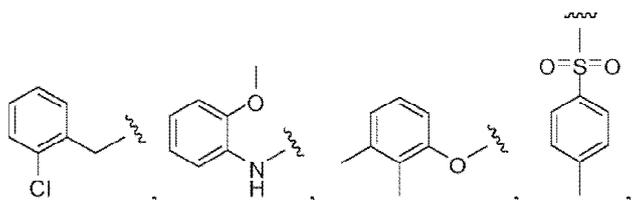
[0062] En otra realización, Ar¹ está sustituido con al menos un -W-R^W seleccionado de los siguientes:

35



40

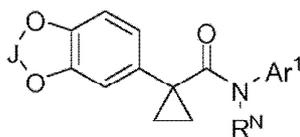
45



50

[0063] En otra realización, la presente invención se refiere a compuestos que tienen la fórmula Ia:

55



60

Ia

donde:

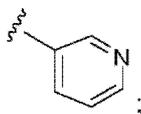
J es CH₂ o CF₂;

65

R^N es H, alquilo, arilo, o heteroarilo;

Ar¹ es

5



10

Ar¹ está opcionalmente sustituido con w apariciones de -W-R^W; donde

W es independientemente una cadena alquilideno (C1-C6) opcionalmente sustituido en la que hasta dos unidades metileno de W están sustituidas independientemente por -O-, -SO₂-, o -NR'-;

15

R' es independientemente H, alquilo o arilo; y

R^W es independientemente H, halo, CN, CF₃, OH, alcoxi, o un grupo alifático opcionalmente sustituido, cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo, o heteroarilo, en el que, cuando está sustituido, R^W está sustituido con hasta dos R₂;

20

R² es halo, CF₃, OR, -(C1-C6)alquilideno-OH, SO₂N(R)₂, CO₂R, C(O)N(R)₂, B(OH)₂, o N(R)₂;

R es independientemente H, alquilo, cicloalquilo, heterociclo, arilo o heteroarilo; y

25

w es un número entero de 0 a 5 inclusive;

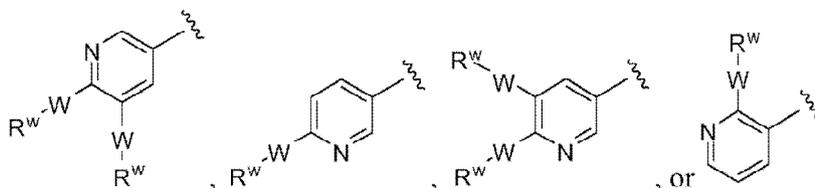
[0064] En otra realización, la presente invención se refiere a compuestos de fórmula **1a** y las definiciones adjuntas, en la que J es CH₂. En otra realización, J es CF₂.

30

[0065] En otra realización, la presente invención se refiere a compuestos de fórmula **1a** y las definiciones adjuntas, en donde R^N es H o heteroarilo. En otra realización, R^N es heteroarilo. En otra realización, R^N es H.

[0066] En otra realización, Ar¹ se selecciona de los siguientes:

35



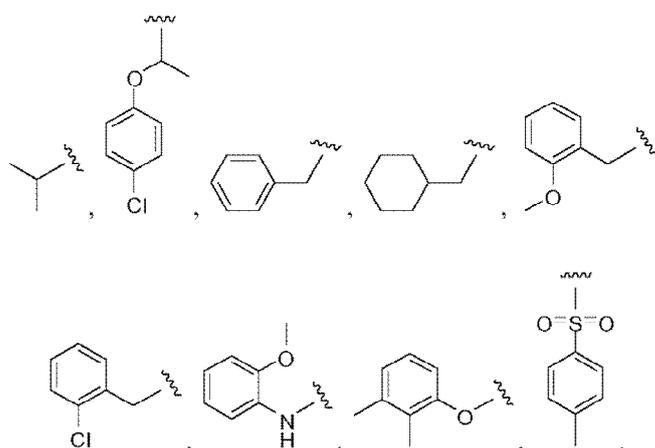
40

[0067] En otra realización, la presente invención se refiere a compuestos de fórmula **1a** y las definiciones adjuntas, en la que Ar¹ está sustituido con un -W-R^W acíclico.

45

[0068] En otra realización, la presente invención se refiere a compuestos de fórmula **1a** y las definiciones adjuntas, en la que Ar¹ está sustituido con al menos un -W-R^W seleccionado de los siguientes:

50



55

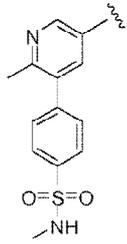
60

65

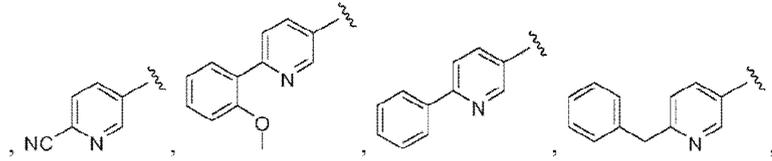
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

Ar¹ se selecciona de los siguientes:

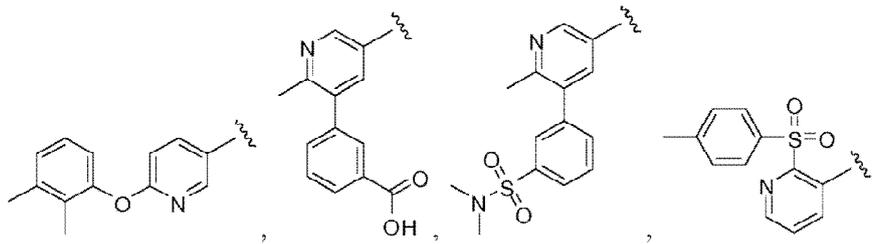
5



10

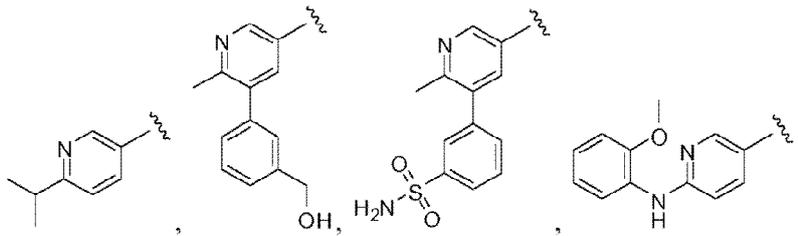


15



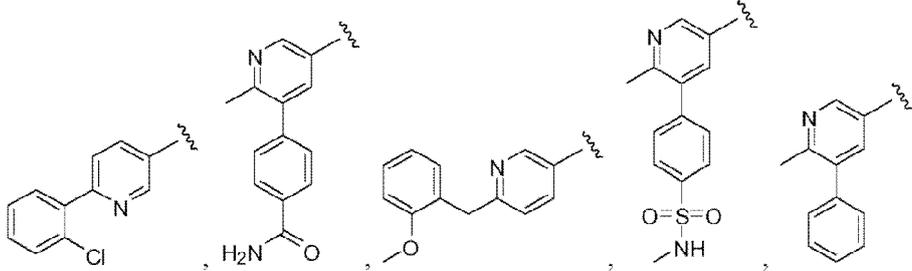
20

25



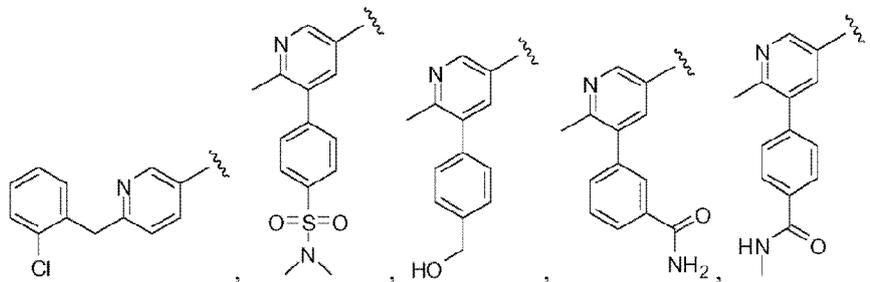
30

35



40

45



50

55

[0071] En otra realización, la presente invención se refiere a compuestos 3, 6, 7, 8, 15 a 20, 24, 26, 29 a 32, 37 a 40, 42 y 43 en la Tabla 1. Los compuestos restantes en la Tabla 1 son solo ejemplos de referencia.

65

Tabla 1.

	1	2	3
5			
10	4	5	6
15			
20	7	8	9
25			
30	10	11	12
35			
40	13	14	15
45			
50	16	17	18
55			
60	19	20	21
65			

(continuación)

5			
10	22	23	24
15			
20	25	26	27
25			
30	28	29	30
35			
40	31	32	33
45			
50	34	35	36
55			
60	37	38	39
65			

(continuación)

5			
10			
15	40	41	42
20			
25			
30	43	44	45
35			
40	46	47	
45			

50 **[0072]** En otra realización, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende (i) un compuesto de la presente invención; y (ii) un vehículo farmacéuticamente aceptable. Preferiblemente, la composición farmacéutica comprende además un agente adicional seleccionado del grupo que consiste en un agente mucolítico, broncodilatador, un antibiótico, un agente antiinfeccioso, un agente antiinflamatorio, corrector de CFTR y un agente nutricional.

55 **[0073]** En otra realización, la presente invención se refiere a un método ex vivo de modulación de los transportadores ABC en una membrana de una célula, que comprende la etapa de poner en contacto dicha célula con un compuesto de la presente invención. Preferiblemente, el transportador ABC es CFTR.

60 **[0074]** En otra realización, la presente invención se refiere a un compuesto para uso en un método de tratamiento de una afección, enfermedad o trastorno en un paciente implicado por la actividad del transportador ABC, en el que el método comprende la etapa de administrar a dicho paciente un compuesto de la presente invención. En otra realización, el transportador ABC es CFTR. En otra realización, dicha afección, enfermedad o trastorno se selecciona de fibrosis quística, enfisema hereditario, hemocromatosis hereditaria, deficiencias de coagulación-fibrinólisis, tales como deficiencia de proteína C, angioedema hereditario de tipo 1, deficiencias de procesamiento de lípidos, tales como hipercolesterolemia familiar, quilomicronemia tipo 1, abetalipoproteinemia, enfermedades de

almacenamiento lisosomal, como enfermedad de células I/pseudo Hurler, mucopolisacaridosis, Sandhof/Tay-Sachs, Crigler-Najjar tipo II, poliendocrinopatía/hiperinsulinemia, diabetes mellitus, enanismo de laron, deficiencia de mieloperoxidasa, hipoparatiroidismo primario, melanoma, glucanosis CDG tipo 1, enfisema hereditario, hipotiroidismo congénito, osteogénesis imperfecta, hipofibrinogenemia hereditaria, deficiencia de ACT, diabetes insípida (di), neurofibrino di, neprogénica DI, síndrome de Charcot-Marie Tooth, enfermedad Perizaeus-Merzbacher, enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica, plasma supranuclear progresivo, enfermedad de Pick, varios trastornos neurológicos de la poliglutamina como Huntington, ataxia espinocerebular tipo I, espinal y atrofia muscular bulbar, palidoluisiana dentatorubal, y distrofia miotónica, así como encefalopatías espongiiformes, tales como la enfermedad hereditaria de Creutzfeldt-Jakob, enfermedad de Fabry, síndrome de Straussler-Scheinker, EPOC, enfermedad del ojo seco, y la enfermedad de Sjögren.

[0075] En otra realización, la presente invención se refiere a un kit para uso en la medición de la actividad de un transportador ABC o un fragmento del mismo en una muestra biológica *in vitro* o *in vivo*, que comprende: (i) una primera composición que comprende un compuesto de la presente invención; y (ii) instrucciones para: a) poner en contacto la composición con la muestra biológica; y b) medir la actividad de dicho transportador ABC o un fragmento del mismo.

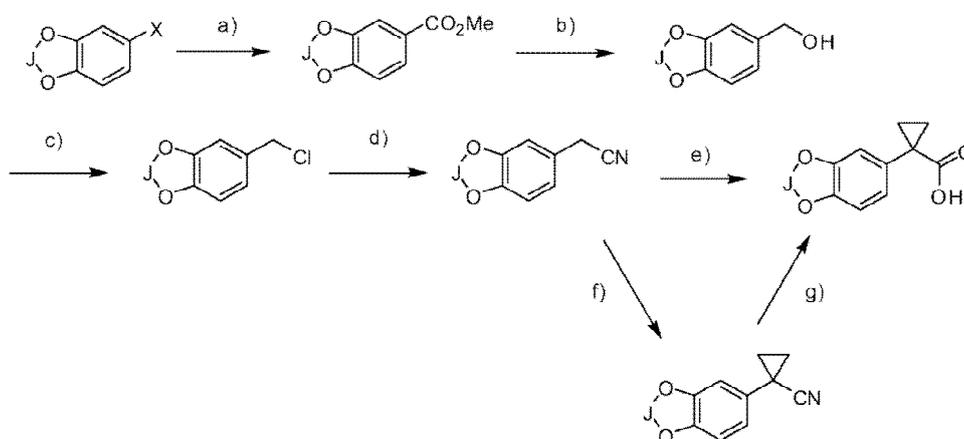
Esquemas sintéticos generales

[0076] Los compuestos de fórmula I se pueden preparar por métodos bien conocidos en la técnica. A continuación se ilustran métodos ejemplares para la preparación de compuestos de fórmula I. Esquemas I a continuación ilustran un procedimiento sintético ejemplar para compuestos de fórmula I.

ESQUEMAS SINTÉTICOS

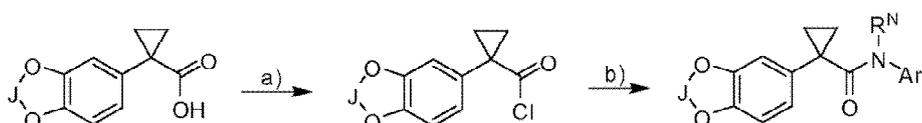
[0077] Los compuestos de la invención se pueden preparar por métodos conocidos y como se ilustra en los Esquemas I - III.

Esquema I - Preparación de ácidos de cicloalquilo

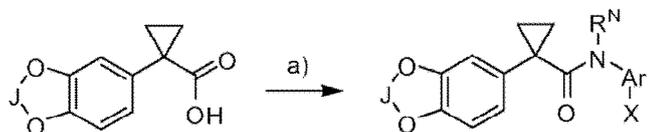


a) X= Br, I; Pd(PPh₃)₄, CO, MeOH; b) LiAlH₄; c) SOCl₂; d) NaCN; e) ClCH₂CH₂Br, NaOH, ΔT; f) ClCH₂CH₂Br, NaOH; g) NaOH, ΔT.

Esquema II - Acoplamiento de amida

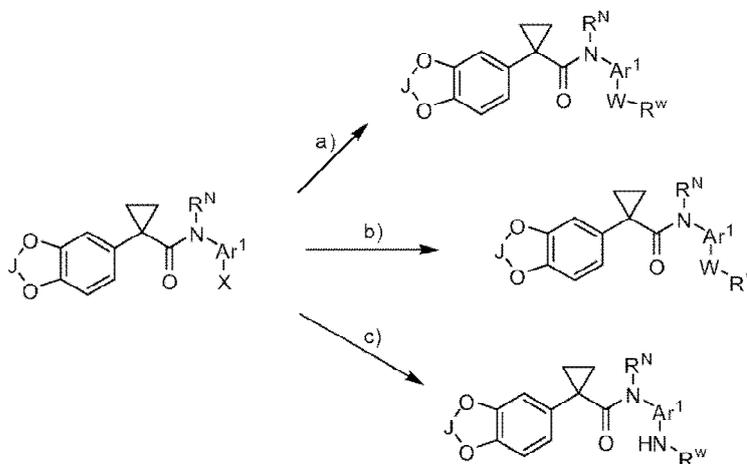


a) SOCl_2 , DMF; b) $\text{Ar}^1\text{NR}^N\text{H}$, Et_3N , CH_2Cl_2 ;



a) HATU, DMF, Et_3N , $\text{X-Ar}^1\text{NR}^N\text{H}$ ($\text{X} = \text{haluro}$).

Esquema III - Derivatización de heteroarilhaluros



a) $\text{R}^w\text{-W-B(OR}^w\text{)}_2$ ($\text{R}^w = \text{H, Me}$), $\text{Pd}(0)$, base, DMF, H_2O ; b) $\text{R}^w\text{-CH}_2\text{ZnX}$,
 (dppf) $_2\text{PdCl}_2$, CH_2Cl_2 , THF ($\text{X} = \text{Cl, Br}$); c) (dppf) $_2\text{PdCl}_2$, Xantphos, K^tOBu ,

dioxano, Et_3N , $\text{R}^w\text{-NH}_2$.

[0078] Un experto en la técnica apreciarán fácilmente que las rutas sintéticas adecuadas para los diversos sustituyentes de la presente invención son tales que la reacción, condiciones y pasos.

45 *Usos, Formulación y Administración*

Composiciones farmacéuticamente aceptables

[0079] Como se ha discutido anteriormente, la presente invención proporciona compuestos que son útiles como moduladores de transportadores ABC y por lo tanto son útiles en el tratamiento de enfermedades, trastornos o afecciones tales como fibrosis quística, enfisema hereditario, hemocromatosis hereditaria, deficiencias de la coagulación-fibrinólisis, como deficiencia de proteína C, angioedema hereditario de tipo 1, deficiencias de procesamiento de lípidos, como hipercolesterolemia familiar, quilomicronemia tipo 1, abetalipoproteinemia, enfermedades de almacenamiento lisosomal, como enfermedad de células I/pseudo hurler, mucopolisacaridosis, Sandhof/Tay-Sachs, Crigler-Najjar tipo II, poliendocrinopatía/hiperinsulemia, diabetes mellitus, enanismo de Laron, deficiencia de mieloperoxidasa, hipoparatiroidismo primario, melanoma, glucanosis CDG tipo 1, enfisema hereditario, hipertiroidismo congénito, osteogénesis imperfecta, hipofibrinogenemia hereditaria, deficiencia de ACT, Diabetes insípida (DI), Neurofisaria DI, Netrogénica DI, Síndrome de Charcot-Marie Tooth, Enfermedad de Perlizaeus-Merzbacher, Enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer, Enfermedad de Parkinson, Esclerosis lateral amiotrófica, Plasma supranuclear progresivo, Enfermedad de Pick, varios trastornos neurológicos de la poliglutamina tales como Huntington, ataxia espinocerebelar tipo I, espinal y atrofia bulbar muscular, palidoluisiana dentatorubal, y distrofia miotónica, así como encefalopatías espongiiformes, tales como la enfermedad hereditaria de Creutzfeldt-Jakob (debido a un defecto de procesamiento de la proteína del prión), enfermedad de Fabry, Síndrome de Straussler-Scheinker, EPOC, enfermedad del ojo seco y enfermedad de Sjögren.

[0080] Como consecuencia, en otro aspecto de la presente invención, se proporcionan composiciones

farmacéuticamente aceptables, en las que estas composiciones comprenden cualquiera de los compuestos como se describe en el presente documento, y comprenden un vehículo farmacéuticamente aceptable. En ciertas realizaciones, estas composiciones opcionalmente comprenden adicionalmente uno o más agentes terapéuticos adicionales.

5 **[0081]** También se apreciará que ciertos de los compuestos de presente invención pueden existir en forma libre para el tratamiento, o cuando sea apropiado, como un derivado farmacéuticamente aceptable del mismo. De acuerdo con la presente invención, un derivado farmacéuticamente aceptable incluye, pero no se limita a, sales, ésteres, sales farmacéuticamente aceptables de tales ésteres, o cualquier otro aducto o derivado que, tras la administración a un
10 paciente necesitado, es capaz de proporcionar, directa o indirectamente, un compuesto como se describe aquí de otra manera, o un metabolito o residuo del mismo.

[0082] Tal como se utiliza aquí, el término "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a aquellas sales que son, dentro del alcance del juicio médico, adecuadas para uso en contacto con los tejidos de humanos y animales inferiores sin toxicidad, irritación, respuesta alérgica y similares, y son acordes con una relación beneficio/riesgo razonable. Una "sal farmacéuticamente aceptable" significa cualquier sal o sal no tóxica de un éster de un compuesto de esta invención que, tras la administración a un receptor, es capaz de proporcionar, directa o indirectamente, un compuesto de esta invención o un metabolito inhibidor activo o residuo del mismo. Como se usa en el presente documento, el término "metabolito inhibidor activo o residuo del mismo" significa que un metabolito o
15 residuo del mismo también es un inhibidor de un transportador de casete de unión a ATP.

[0083] Las sales farmacéuticamente aceptables son bien conocidas en la técnica. Por ejemplo, S.M. Berge, et al. describe sales farmacéuticamente aceptables en detalle en J. Pharmaceutical Sciences, 1977, 66, 1-19. Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de esta invención incluyen los derivados de ácidos y bases inorgánicas y orgánicas adecuadas. Ejemplos de sales de adición de ácido no tóxicas farmacéuticamente aceptables son sales de un grupo amino formado con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico y ácido perclórico o con ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido oxálico, ácido maleico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido succínico o ácido malónico o usando otros métodos usados en la técnica tales como el intercambio iónico. Otras sales farmacéuticamente aceptables incluyen adipato, alginato, ascorbato, aspartato, bencenosulfonato, benzoato, bisulfato, borato, butirato, canforato, canforsulfonato, citrato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etansulfonato, formiato, fumarato, glucoheptonato, glicerofosfato, gluconato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, hidroyoduro, 2-hidroxi-etanosulfonato, lactobionato, lactosa, laurato, laurilo sulfato, malato, maleato, malonato, metanosulfonato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, nitrato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, fosfato, picrato, pivalato, propionato, estearato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato, p-toluenosulfonato, undecanoato, sales de valerato, y similares. Las sales derivadas de bases apropiadas incluyen metal alcalino, metal alcalinotérreo, amonio y sales $N^+(C_{1-4}alquilo)_4$. Esta invención también prevé la cuaternización de cualquier grupo básico que contenga nitrógeno de los compuestos descritos en este documento. Pueden obtenerse productos solubles o dispersables en agua o aceite mediante dicha cuaternización. Las sales de metales alcalinos o alcalinotérreos representativas incluyen sodio, litio, potasio, calcio, magnesio y similares. Otras sales farmacéuticamente aceptables incluyen, cuando sea apropiado, cationes de amonio, amonio cuaternario y amina no tóxicos formados usando contraiones tales como haluro, hidróxido, carboxilato, sulfato, fosfato, nitrato, alquilsulfonato inferior y arilsulfonato.
25
30
35
40

[0084] Como se describió anteriormente, las composiciones farmacéuticamente aceptables de la presente invención comprenden adicionalmente un vehículo farmacéuticamente aceptable, que, como se usa aquí, incluye cualquiera y todos los disolventes, diluyentes, u otro vehículo líquido, auxiliares de dispersión o suspensión, agentes activos tensoactivos, agentes isotónicos, agentes espesantes o emulsionantes, conservantes, aglutinantes sólidos, lubricantes y similares, adecuados para la forma de dosificación particular deseada. Remington's Pharmaceutical Sciences, Decimosexta edición, E.W. Martin (Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1980) describe varios vehículos utilizados en la formulación de composiciones farmacéuticamente aceptables y técnicas conocidas para la preparación de los mismos. Excepto en la medida en que cualquier medio portador convencional sea incompatible con los compuestos de la invención, tal como produciendo cualquier efecto biológico indeseable o interactuando de otra manera de manera perjudicial con cualquier otro componente de la composición farmacéuticamente aceptable, se contempla que su uso sea dentro del alcance de esta invención. Algunos ejemplos de materiales que pueden servir como vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, intercambiadores de iones, alúmina, estearato de aluminio, lecitina, proteínas séricas, tales como albúmina sérica humana, sustancias reguladoras tales como fosfatos, glicina, ácido sórbico, o sorbato de potasio, mezclas parciales de glicéridos de ácidos grasos vegetales saturados, agua, sales o electrolitos, como sulfato de protamina, hidrogenofosfato disódico, hidrogenofosfato de potasio, cloruro de sodio, sales de zinc, sílice coloidal, trisilicato de magnesio, polivinilpirrolidona, poliácridatos, ceras de polietileno polímeros de bloque de polioxipropileno, grasa de lana, azúcares tales como lactosa, glucosa y sacarosa; almidones tales como almidón de maíz y almidón de patata; celulosa y sus derivados tales como celulosa de carboximetilo de sodio, celulosa de etilo y acetato de celulosa; tragacanto en polvo; malta; gelatina; talco; excipientes tales como manteca de cacao y ceras para supositorios; aceites tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón; aceite de cártamo; aceite de sésamo; aceite de oliva; aceite de maíz y aceite de soja; glicoles; tal propilenglicol o polietilenglicol; ésteres tales como oleato de etilo y laurato de etilo; agar; agentes tamponantes tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; ácido
45
50
55
60
65

algénico; agua libre de pirógenos; solución salina isotónica; la solución de Ringer; las soluciones de alcohol etílico y tampón de fosfato, así como otros lubricantes no tóxicos compatibles como laurilo sulfato de sodio y estearato de magnesio, así como agentes colorantes, agentes liberadores, agentes de revestimiento, edulcorantes, aromatizantes y conservantes, conservantes y antioxidantes también pueden estar presentes en la composición, de acuerdo con el juicio del formulador.

Usos de Compuestos y Composiciones Farmacéuticamente Aceptables

[0085] En otro aspecto más, la presente invención proporciona un compuesto para uso en un método de tratamiento de una afección, enfermedad, o trastorno implicado por la actividad del transportador ABC. En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona compuestos para usar en un método para tratar una afección, enfermedad o trastorno implicado por una deficiencia de actividad transportadora de ABC, en donde el método comprende administrar una composición que comprende un compuesto de fórmula (I) a un sujeto, preferiblemente un mamífero, que lo necesite.

[0086] En ciertas realizaciones preferidas, la presente invención proporciona un compuesto para uso en un método de tratamiento de la fibrosis quística, enfisema hereditario (debido a al-antitripsina; variantes no Piz), la hemocromatosis hereditaria, deficiencias de la coagulación-fibrinólisis, como la deficiencia de proteína C, angioedema hereditario de tipo 1, deficiencias de procesamiento de lípidos, como hipercolesterolemia familiar, quilomicronemia tipo 1, abetalipoproteinemia, enfermedades de almacenamiento lisosomal, como enfermedad de células I/pseudo Hurler, mucopolisacaridos (debido a enzimas de procesamiento lisosomal), Sandhof/Tay-Sachs (debido a β -hexosaminidasa), Crigler-Najjar tipo II (debido a UDP-glucuronilo-sialyl-transferasa), poliendocrinopatía/hiperinsulemia, diabetes mellitus (debido al receptor de insulina), enanismo de Laron (debido al receptor de la hormona de crecimiento), deficiencia de mieloperoxidasa, hipoparatiroidismo primario (debido a la hormona de preparatiroides), melanoma (debido a tirosinasa). Las enfermedades asociadas con la última clase de mal funcionamiento ER son glucanosis CDG tipo 1, enfisema hereditario (debido a alfa 1-antitripsina (variante PIZ), hipertiroidismo congénito, osteogénesis imperfecta (debido a procolágeno Tipo I, II, IV), hipofibrinogenemia hereditaria (debido a fibrinógeno), la deficiencia de ACT (debido a alfa 1-antiquimotripsina), diabetes insípida (DI), la neurofisis DI (debido a hormona de vasopresina/receptor V2), DI neprogénico (debido a acuaporina II), síndrome de Charcot-Marie Tooth (debido a la proteína periférica de mielina 22), enfermedad de Perlizaeus-Merzbacher, enfermedades neurodegenerativas tales como la enfermedad de Alzheimer (debido a β APP y presenilinas), enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica I, parálisis supranuclear progresiva, enfermedad de Pick, varios trastornos neurológicos de la poliglutamina tales como Huntington, ataxia espinocerebular tipo I, atrofia muscular espinal y bulbar, palidoluisio dentatorubal y distrofia miotónica, así como encefalopatías espongiiformes, tales como Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob hereditaria (debido a un defecto de procesamiento de la proteína priónica), la enfermedad de Fabry (debido a α -galactosidasa A lisosomal), el síndrome de Straussler-Scheinker, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), enfermedad del ojo seco y el síndrome de Sjögren, que comprende la etapa de administrar a dicho mamífero una cantidad eficaz de una composición que comprende un compuesto de fórmula (I), o una forma de realización preferida de la misma como se expuso anteriormente.

[0087] De acuerdo con una realización preferida alternativa, la presente invención proporciona un compuesto para uso en un método de tratamiento de la fibrosis quística, en donde el método comprende la etapa de administrar a dicho mamífero una composición que comprende una cantidad eficaz de una composición que comprende un compuesto de fórmula (I), o una realización preferida de la misma como se establece anteriormente.

[0088] Según la invención, una "cantidad eficaz" del compuesto o composición farmacéuticamente aceptable es la cantidad eficaz para tratar o disminuir la gravedad de uno o más de fibrosis quística, enfisema hereditario (debido a al-antitripsina; variantes no Piz), hemocromatosis hereditaria, deficiencias de coagulación-fibrinólisis, como deficiencia de proteína C, angioedema hereditario de tipo 1, deficiencias de procesamiento de lípidos, como hipercolesterolemia familiar, quilomicronemia tipo 1, abetalipoproteinemia, enfermedades de almacenamiento lisosómico, como enfermedad de células I/pseudo-Hurler, mucopolisacaridosas (debido a enzimas de procesamiento lisosomal), Sandhof/Tay-Sachs (debido a β -hexosaminidasa), Crigler-Najjar tipo II (debido a UDP-glucuronilo-sialyl-transferasa), poliendocrinopatía/hiperinsulinemia, diabetes mellitus (debido al receptor de insulina), enanismo de Laron (debido al receptor de hormona del crecimiento), deficiencia de mieloperoxidasa, hipoparatiroidismo primario (debido a la hormona preparatiroides), melanoma (debido a la tirosinasa). Las enfermedades asociadas con la última clase de mal funcionamiento ER son glucanosis CDG tipo 1, enfisema hereditario (debido a alfa 1-antitripsina (variante PIZ), hipertiroidismo congénito, osteogénesis imperfecta (debido al procolágeno Tipo I, II, IV), hipofibrinogenemia hereditaria (debido a fibrinógeno), la deficiencia de ACT (debido a alfa 1-antiquimotripsina), diabetes insípida (DI), DI neurofiseal (debida a hormona de vasopresina/receptor V2), DI nefrogénica (debida a la acuaporina II), síndrome de Charcot-Marie Tooth (debido a proteína de mielina periférica 22), enfermedad de Perlizaeus-Merzbacher, enfermedades neurodegenerativas tales como la enfermedad de Alzheimer (debida a β APP y presenilinas), enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica, parálisis supranuclear progresiva, enfermedad de Pick, varios trastornos neurológicos de la poliglutamina tales como Huntington, ataxia espinocerebular tipo I, atrofia muscular espinal y bulbar, palidoluisiana dentatorubal, y distrofia miotónica, así como encefalopatías espongiiformes, tales como la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob hereditaria (debido a un defecto en el procesamiento de proteínas prion), la enfermedad de Fabry (debido a α -galactosidasa A lisosomal), síndrome de

Straussler-Scheinker, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), enfermedad del ojo seco y síndrome de Sjögren.

5 **[0089]** Los compuestos y composiciones, como se usan en la presente invención, se pueden administrar usando cualquier cantidad y cualquier vía de administración eficaz para tratar o disminuir la gravedad de uno o más de fibrosis quística, enfisema hereditario (debido a alfa 1-antitripsina; variantes no Piz), hemocromatosis hereditaria, deficiencias de la coagulación-fibrinólisis, tales como deficiencia de proteína C, angioedema hereditaria de Tipo 1, deficiencias de procesamiento de lípidos, tales como hipercolesterolemia familiar, quilomicronemia de Tipo 1, abetalipoproteinemia, enfermedades de almacenamiento lisosomal, tales como enfermedad células I/pseudo-Hurler, mucopolisacaridosis (debido a enzimas de procesamiento lisosomal), Sandhof/Tay-Sachs (debido a β -hexosaminidasa), Crigler-Najjar tipo II (debido a UDP-glucuronilo-sialic-transferasa), poliendocrinopatía/hiperinsulinemia, diabetes mellitus (debido al receptor de insulina), enanismo de Laron (debido al receptor de hormona del crecimiento), deficiencia de mieloperoxidasa, hipoparatiroidismo primario (debido a la hormona preparatiroides), melanoma (debido a la tirosinasa). Las enfermedades asociadas con la última clase de mal funcionamiento ER son glucanosis CDG tipo 1, enfisema hereditario (debido a alfa 1-antitripsina (variante PIZ), hipertiroidismo congénito, la osteogénesis imperfecta (debido al procolágeno de Tipo I, II, IV), hipofibrinogenemia hereditaria (debido a fibrinógeno), la deficiencia de ACT (debido a alfa 1-antiquimotripsina), diabetes insípida (DI), DI neurofiseal (debida a hormona de vasopresina/receptor V2), DI nefrogénica (debida a la acuaporina II), síndrome de Charcot-Marie Tooth (debido a proteína de mielina periférica 22), enfermedad de Perizaeus-Merzbacher, enfermedades neurodegenerativas tales como la enfermedad de Alzheimer (debido a β APP y presenilinas), enfermedad de Parkinson, esclerosis amiotrófica lateral, parálisis supranuclear progresiva, enfermedad de Pick, varios trastornos neurológicos de poliglutamina tales como Huntington, ataxia espinocerebular de tipo I, atrofia muscular espinal y bulbar, palidoluisiano dentatorubal, y distrofia miotónica, así como encefalopatías espongiiformes, tales como enfermedad Creutzfeldt-Jakob hereditaria (debido a un defecto de procesamiento de la proteína priónica), la enfermedad de Fabry (debido a α -galactosidasa A lisosomal), el síndrome de Straussler-Scheinker, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), enfermedad del ojo seco, y síndrome de Sjögren.

30 **[0090]** La cantidad exacta requerida variará de sujeto a sujeto, dependiendo de la especie, edad, y condición general del sujeto, la gravedad de la infección, el agente particular, su modo de administración, y similares. Los compuestos de la invención se formulan preferiblemente en forma unitaria de dosificación para facilidad de administración y uniformidad de dosificación. La expresión "forma de dosificación unitaria" tal como se utiliza aquí se refiere a una unidad físicamente discreta de agente apropiado para el paciente a tratar. Se entenderá, sin embargo, que el uso diario total de los compuestos y composiciones de la presente invención será decidido por el médico asistente dentro del alcance del juicio médico. El nivel de dosis eficaz específico para cualquier paciente u organismo particular dependerá de una variedad de factores incluyendo el trastorno a tratar y la gravedad del trastorno; la actividad del compuesto específico empleado; la composición específica empleada; la edad, peso corporal, salud general, sexo y dieta del paciente; el tiempo de administración, vía de administración, y velocidad de excreción del compuesto específico empleado; la duración del tratamiento; fármacos usados en combinación o coincidentes con el compuesto específico empleado, y factores similares bien conocidos en las técnicas médicas. El término "paciente", como se usa aquí, significa un animal, preferiblemente un mamífero, y lo más preferiblemente un ser humano.

45 **[0091]** Las composiciones farmacéuticamente aceptables de esta invención pueden administrarse a seres humanos y otros animales por vía oral, rectal, parenteral, intracisternal, intravaginal, intraperitoneal, tópica (como mediante polvos, ungüentos, o gotas), bucal, como una pulverización oral o nasal, o similares, dependiendo de la gravedad de la infección que se está tratando. En ciertas realizaciones, los compuestos de la invención se pueden administrar por vía oral o parenteral a niveles de dosificación de aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 50 mg/kg y preferiblemente de aproximadamente 1 mg/kg a aproximadamente 25 mg/kg, de peso corporal del sujeto por día, una o más veces al día, para obtener el efecto terapéutico deseado.

50 **[0092]** Las formas de dosificación líquidas para administración oral incluyen, pero no se limitan a, emulsiones, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Además de los compuestos activos, las formas de dosificación líquidas pueden contener diluyentes inertes usados comúnmente en la técnica tales como, por ejemplo, agua u otros disolventes, agentes solubilizantes y emulsionantes tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol de bencilo, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, dimetilformamida, aceites (en particular, semilla de algodón, cacahuete, maíz, germen, oliva, ricino y aceites de sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofurfurílico, polietilenglicoles y ésteres de ácidos grasos de sorbitán, y mezclas de los mismos. Además de los diluyentes inertes, las composiciones orales también pueden incluir adyuvantes tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y de suspensión, edulcorantes, aromatizantes y agentes perfumantes.

60 **[0093]** Las preparaciones inyectables, por ejemplo, suspensiones acuosas u oleaginosas inyectables estériles pueden formularse de acuerdo con la técnica conocida usando agentes de dispersión o humectantes adecuados y agentes de suspensión. La preparación inyectable estéril puede ser también una solución inyectable, suspensión o emulsión inyectable estéril en un diluyente no tóxico parenteralmente aceptable o disolvente, por ejemplo, como una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden emplearse están agua, solución

de Ringer, USP y solución de cloruro de sodio isotónico. Además, los aceites fijos estériles se emplean convencionalmente como medio disolvente o de suspensión. Para este propósito cualquier aceite fijo blando se puede emplear incluyendo mono- o diglicéridos sintéticos. Además, los ácidos grasos tales como ácido oleico se usan en la preparación de inyectables.

5 **[0094]** Las formulaciones inyectables se pueden esterilizar, por ejemplo, por filtración a través de un filtro de retención de bacterias, o incorporando agentes esterilizantes en forma de composiciones sólidas estériles que pueden disolverse o dispersarse en agua estéril u otro medio inyectable estéril antes de su utilización.

10 **[0095]** Con el fin de prolongar el efecto de un compuesto de la presente invención, a menudo es deseable ralentizar la absorción del compuesto desde la inyección subcutánea o intramuscular. Esto se puede lograr por el uso de una suspensión líquida de material cristalino o amorfo con escasa solubilidad en agua. La velocidad de absorción del compuesto depende entonces de su velocidad de disolución que, a su vez, puede depender del tamaño del cristal y la forma cristalina. Alternativamente, la absorción retardada de una forma de compuesto administrada parenteralmente se logra disolviendo o suspendiendo el compuesto en un vehículo oleoso. Las formas de depósito inyectables se elaboran formando matrices microencapsuladas del compuesto en polímeros biodegradables tales como polilactida-poliglicolida. Dependiendo de la proporción de compuesto a polímero y de la naturaleza del polímero particular empleado, la tasa de liberación del compuesto se puede controlar. Ejemplos de otros polímeros biodegradables incluyen poli(ortoésteres) y poli(anhídridos). Las formulaciones inyectables de depósito también se preparan atrapando el compuesto en liposomas o microemulsiones que son compatibles con los tejidos corporales.

15 **[0096]** Las composiciones para administración rectal o vaginal son preferiblemente supositorios que pueden prepararse mezclando los compuestos de esta invención con excipientes no irritantes adecuados o portadores tales como manteca de cacao, polietilenglicol o una cera de supositorio que son sólidos a temperatura ambiente pero líquidos a la temperatura corporal y por lo tanto se fundirán en el recto o la cavidad vaginal y liberan el compuesto activo.

20 **[0097]** Las formas de dosificación sólidas para administración oral incluyen cápsulas, comprimidos, píldoras, polvos, y gránulos. En tales formas de dosificación sólidas, el compuesto activo se mezcla con excipiente o al menos un vehículo inerte, farmacéuticamente aceptable tal como citrato de sodio o fosfato dicálcico y/o a) cargas o extensores tales como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol, y ácido silícico, b) aglutinantes tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidina, sacarosa, y acacia, c) humectantes tales como glicerol, d) agentes disgregantes tales como agar - agar, carbonato de calcio, almidón de patata o tapioca, ácido algínico, ciertos silicatos, y carbonato de sodio, e) agentes retardadores de la solución tales como parafina, f) aceleradores de la absorción tales como compuestos de amonio cuaternario, g) agentes humectantes tales como, por ejemplo, alcohol cetílico y monoestearato de glicerol, h) absorbentes tales como caolín y arcilla de bentonita, y i) lubricantes tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, laurilo sulfato de sodio, y mezclas de los mismos. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, la forma de dosificación también puede comprender agentes tamponantes.

30 **[0098]** Las composiciones sólidas de un tipo similar también se pueden emplear como cargas en cápsulas de gelatina rellenas blandas y duras usando excipientes tales como lactosa o azúcar de la leche así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares. Las formas de dosificación sólidas de comprimidos, grageas, cápsulas, píldoras y gránulos pueden prepararse con recubrimientos y cubiertas tales como recubrimientos entéricos y otros recubrimientos bien conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica. Pueden contener opcionalmente agentes opacificantes y también pueden ser de una composición tal que liberen el ingrediente activo solamente, o preferentemente, en una cierta parte del tracto intestinal, opcionalmente, de una manera retardada. Ejemplos de composiciones de inclusión que pueden usarse incluyen sustancias poliméricas y ceras. Las composiciones sólidas de un tipo similar también se pueden emplear como cargas en cápsulas de gelatina rellenas blandas y duras usando excipientes tales como lactosa o azúcar de la leche así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares.

40 **[0099]** Los compuestos activos también pueden estar en forma microencapsulada con uno o más excipientes como se ha indicado anteriormente. Las formas de dosificación sólidas de comprimidos, grageas, cápsulas, píldoras y gránulos pueden prepararse con recubrimientos y cubiertas tales como recubrimientos entéricos, recubrimientos de liberación controlada y otros recubrimientos bien conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica. En tales formas de dosificación sólida el compuesto activo puede ser mezclado con al menos un diluyente inerte tal como sacarosa, lactosa o almidón. Tales formas de dosificación también pueden comprender, como es práctica normal, sustancias adicionales distintas de diluyentes inertes, por ejemplo, lubricantes de compresión y otros ayudantes de compresión tales como un estearato de magnesio y celulosa microcristalina. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, las formas de dosificación también pueden comprender agentes tamponantes. Pueden contener opcionalmente agentes opacificantes y también pueden ser de una composición tal que liberen el ingrediente activo solamente, o preferentemente, en una cierta parte del tracto intestinal, opcionalmente, de una manera retardada. Ejemplos de composiciones de inclusión que pueden usarse incluyen sustancias poliméricas y ceras.

55 **[0100]** Las formas de dosificación para administración tópica o transdérmica de un compuesto de esta invención incluyen pomadas, pastas, cremas, lociones, geles, polvos, soluciones, pulverizaciones, inhalantes o parches. El

componente activo se mezcla en condiciones estériles con un vehículo farmacéuticamente aceptable y cualquier conservante o tampón necesario según se requiera. De formulación, gotas para los oídos, y gotas para los ojos oftálmicas también se contemplan como dentro del alcance de esta invención. Adicionalmente, la presente invención contempla el uso de parches transdérmicos, que tienen la ventaja añadida de proporcionar el suministro controlado de un compuesto al cuerpo. Tales formas de dosificación se preparan disolviendo o dispensando el compuesto en el medio apropiado. Potenciadores de la absorción también pueden ser usados para aumentar el flujo del compuesto a través de la piel. La velocidad puede controlarse proporcionando una membrana controladora de proporción o dispersando el compuesto en una matriz polimérica o gel.

[0101] Como se ha descrito en general anteriormente, los compuestos de la invención son útiles como moduladores de transportadores ABC. Así, sin desear estar ligado por ninguna teoría particular, los compuestos y composiciones son particularmente útiles para tratar o disminuir la gravedad de una enfermedad, afección o trastorno en el que la hiperactividad o inactividad de los transportadores ABC se implica en la enfermedad, afección, o trastorno. Cuando la hiperactividad o inactividad de un transportador ABC está implicada en una enfermedad particular, afección o trastorno, la enfermedad, afección, o trastorno también puede denominarse como un "transportador ABC mediado por la enfermedad, afección o trastorno". Por consiguiente, en otro aspecto, la presente invención proporciona un método para tratar o disminuir la gravedad de una enfermedad, afección o trastorno en el que la hiperactividad o inactividad de un transportador ABC está implicado en el estado de enfermedad.

[0102] La actividad de un compuesto utilizado en esta invención como un modulador de un transportador ABC puede ensayarse de acuerdo con los métodos descritos generalmente en la técnica y en los Ejemplos de este documento.

[0103] También se apreciará que los compuestos y composiciones farmacéuticamente aceptables de la presente invención se pueden emplear en terapias de combinación, es decir, los compuestos y composiciones farmacéuticamente aceptables pueden administrarse simultáneamente con, antes de, o posteriormente a, uno o más otros agentes terapéuticos o procedimientos médicos deseados. La combinación particular de terapias (agentes terapéuticos o procedimientos) a emplear en un régimen de combinación tendrá en cuenta la compatibilidad de los agentes terapéuticos deseados y/o procedimientos y el efecto terapéutico que se desee alcanzar. También se apreciará que las terapias empleadas pueden lograr un efecto deseado para el mismo trastorno (por ejemplo, un compuesto de la invención puede administrarse simultáneamente con otro agente usado para tratar el mismo trastorno), o pueden conseguir efectos diferentes (por ejemplo, control de cualquier efecto adverso). Tal como se usa en el presente documento, los agentes terapéuticos adicionales que se administran normalmente para tratar o prevenir una enfermedad particular, o condición, son conocidos como "apropiados para la enfermedad, o afección, que se está tratando".

[0104] La cantidad de agente terapéutico adicional presente en las composiciones de esta invención no será más que la cantidad que normalmente se administraría en una composición que comprende ese agente terapéutico como el único agente activo. Preferiblemente, la cantidad de agente terapéutico adicional en las composiciones actualmente descritas variará de aproximadamente 50% a 100% de la cantidad normalmente presente en una composición que comprende ese agente como el único agente terapéuticamente activo.

[0105] Los compuestos de esta invención o composiciones farmacéuticamente aceptables de los mismos también pueden incorporarse en composiciones para recubrir un dispositivo médico implantable, tales como prótesis, válvulas artificiales, injertos vasculares, stents y catéteres. Por consiguiente, la presente invención, en otro aspecto, incluye una composición para recubrir un dispositivo implantable que comprende un compuesto de la presente invención tal como se describe en general anteriormente, y en clases y subclases aquí, y un vehículo adecuado para recubrir dicho dispositivo implantable. En todavía otro aspecto, la presente invención incluye un dispositivo implantable recubierto con una composición que comprende un compuesto de la presente invención tal como se describe en general anteriormente, y en clases y subclases aquí, y un vehículo adecuado para recubrir dicho dispositivo implantable. Los recubrimientos adecuados y la preparación general de dispositivos implantables recubiertos se describen en las patentes US 6.099.562; 5.886.026; y 5.304.121. Los recubrimientos son típicamente materiales poliméricos biocompatibles tales como un polímero de hidrogel, polimetildisiloxano, policaprolactona, polietilenglicol, ácido poliláctico, acetato de etileno de vinilo, y mezclas de los mismos. Los revestimientos pueden estar opcionalmente cubiertos además por una capa superior adecuada de fluorosilicona, polisacáridos, polietilenglicol, fosfolípidos o combinaciones de los mismos para impartir características de liberación controlada en la composición.

[0106] La presente descripción se refiere a la modulación de la actividad del transportador ABC en una muestra biológica o un paciente (por ejemplo, *in vitro* o *in vivo*), método que comprende administrar al paciente, o poner en contacto dicha muestra biológica con un compuesto de fórmula I o una composición que comprende dicho compuesto. El término "muestra biológica", como se usa aquí, incluye, sin limitación, cultivos celulares o extractos de los mismos; material de biopsia obtenido de un mamífero o extractos del mismo; y sangre, saliva, orina, heces, semen, lágrimas, u otros fluidos corporales o extractos de los mismos.

[0107] La modulación de la actividad del transportador ABC en una muestra biológica es útil para una variedad de

propósitos que son conocidos para un experto en la técnica. Ejemplos de tales propósitos incluyen, pero no se limitan al estudio de los transportadores ABC en fenómenos biológicos y patológicos; y la evaluación comparativa de nuevos moduladores de transportadores ABC.

5 **[0108]** La presente descripción también se refiere a un método para modular la actividad de un canal de aniones *in vitro* o *in vivo*, se proporciona que comprende la etapa de poner en contacto dicho canal con un compuesto de fórmula (I). En casos preferidos, el canal de aniones es un canal de cloruro o un canal de bicarbonato. En otros casos preferidos, el canal de aniones es un canal de cloruro.

10 **[0109]** De acuerdo con un ejemplo alternativo, la presente invención proporciona un método para aumentar el número de transportadores ABC funcionales en una membrana de una célula, que comprende la etapa de poner en contacto dicha célula con un compuesto de fórmula (I). El término "transportador ABC funcional" como se usa en este documento significa un transportador ABC que es capaz de actividad de transporte. En realizaciones preferidas, dicho transportador ABC funcional es RTFQ.

15 **[0110]** De acuerdo con otro ejemplo preferido, la actividad del transportador ABC se mide midiendo el potencial de voltaje de transmembrana. Medios para medir el potencial de voltaje a través de una membrana en la muestra biológica pueden emplear cualquiera de los métodos conocidos en la técnica, tales como ensayo potencial de membrana óptica u otros métodos electrofisiológicos.

20 **[0111]** El ensayo potencial de membrana óptica utiliza sensores FRET sensibles al voltaje descritos por González y Tsien (Véase, González, J.E. y R.Y. Tsien (1995) "Voltage sensing by fluorescence resonance energy transfer in single cells" *Biophys J* 69 (4): 1272-1280, y González, J.E. y R.Y. Tsien (1997) "Improved indicators of cell membrane potential that use fluorescence resonance energy transfer" *Chem Biol* 4 (4): 269-77) en combinación con instrumentación para medir los cambios de fluorescencia tal como la Lector de Sonda de tensión/ion (VIPR) (Véase, González, JE, K. Oades, et al. (1999) "Cell-based assays and instrumentation for screening ion-channel targets" *Drug Discov Today* 4 (9): 431-439). Estos ensayos sensibles al voltaje se basan en el cambio en la transferencia de fluorescencia de energía resonante (FRET) entre el colorante de membrana soluble, sensible al voltaje, DiSBAC₂ (3), y un fosfolípido fluorescente, CC2-DMPE, que se une a la hoja externa de la membrana plasmática y actúa como donador de FRET. Los cambios en el potencial de membrana (V_m) hacen que la DiSBAC₂ negativamente cargada (3) se redistribuya a través de la membrana plasmática y la cantidad de transferencia de energía de CC2-DMPE cambia en consecuencia. Los cambios en la emisión de fluorescencia pueden monitorizarse usando VIPRTM II, que es un manipulador de líquidos y detector fluorescente integrado diseñado para realizar pantallas basadas en células en placas de microtitulación de 96 o 384 pocillos.

35 **[0112]** En otro aspecto la presente invención proporciona un kit para uso en la medición de la actividad de un transportador ABC o un fragmento del mismo en una muestra biológica *in vitro* o *in vivo* que comprende (i) una composición que comprende un compuesto de fórmula (I) o cualquiera de las realizaciones anteriores; y (ii) instrucciones para a) poner en contacto la composición con la muestra biológica y b) medir la actividad de dicho transportador ABC o un fragmento del mismo. En una realización, el kit comprende además instrucciones para a) poner en contacto una composición adicional con la muestra biológica; b) medir la actividad de dicho transportador ABC o un fragmento del mismo en presencia de dicho compuesto adicional, y c) comparar la actividad del transportador ABC en presencia del compuesto adicional con la densidad del transportador ABC en la presencia de una composición de fórmula (I). En realizaciones preferidas, el kit se usa para medir la densidad de CFTR.

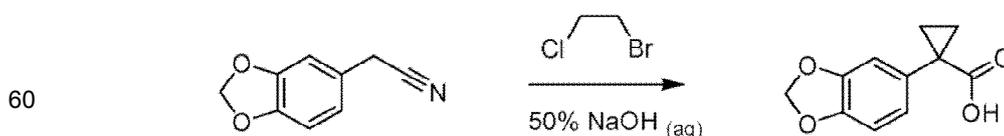
45 **[0113]** A fin de que la invención descrita aquí pueda entenderse más completamente, los siguientes ejemplos se exponen. Debe entenderse que estos ejemplos son sólo para fines ilustrativos y no se deben interpretar como limitantes de esta invención de ninguna manera.

50 EJEMPLOS

Preparación de 1-benzo ácido[1,3]dioxol-5-ilo-ácido ciclopropanocarboxílico

55 [0114]

55

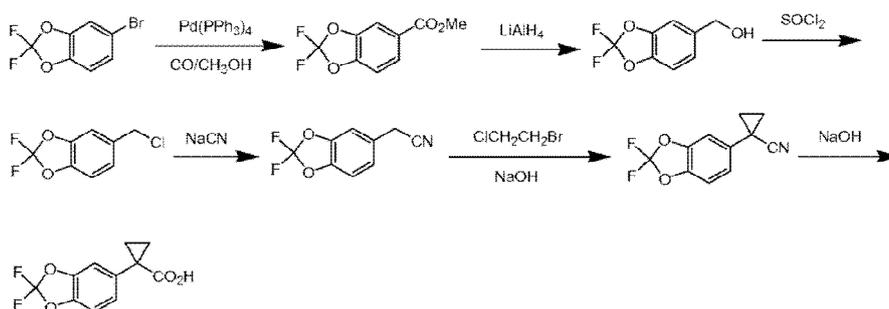


65 **[0115]** Una mezcla de 2-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)acetonitrilo (5,10 g 31,7 mmol), 1-bromo-2-cloro-etano (9,00 ml 109 mmol), y cloruro de benciltriethylamonio (0,181 g, 0,795 mmol) se calentó a 70°C y luego 50% (p./p.) de hidróxido de sodio acuoso (26 ml) se añadió lentamente a la mezcla. La reacción se agitó a 70°C durante 24 horas y después

se calentó a 130°C durante 48 horas. La mezcla de reacción de color marrón oscuro se diluyó con agua (400 ml) y se extrajo una vez con un volumen igual de acetato de etilo y una vez con un volumen igual de diclorometano. La solución acuosa básica se acidificó con ácido clorhídrico concentrado a pH menos que uno y el precipitado se filtró y se lavó con ácido clorhídrico 1 M. El material sólido se disolvió en diclorometano (400 ml) y se extrajo dos veces con volúmenes iguales de ácido clorhídrico 1 M y una vez con una solución acuosa saturada de cloruro de sodio. La solución orgánica se secó sobre sulfato de sodio y se evaporó a sequedad para dar un color blanco a ligeramente sólido de color blanquecino (5,23 g, 80%) ESI-MS *m/z* calc. 206,1, encontrado 207,1 (M+1)⁺. Retención de tiempo de 2,37 minutos. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 1,07-1,11 (m, 2H), 1,38-1,42 (m, 2H), 5,98 (s, 2H), 6,79 (m, 2H), 6,88 (m, 1H), 12,26 (s, 1H).

Preparación de 1-(2,2-difluoro-benzo[1,3]dioxol-5-ilo)ácido ciclopropanocarboxílico

[0116]



Paso a: éster metílico del ácido 2,2-Difluoro-benzo[1,3]dioxol-5-carboxílico

[0117] Una solución de 5-bromo-2,2-difluoro-benzo[1,3]dioxol (11,8 g, 50,0 mmol) y tetraquis(trifenilfosfina)paladio (0) [Pd(PPh₃)₄, 5,78 g, 5,00 mmol] en metanol (20 ml) que contenía acetonitrilo (30 ml) y trietilamina (10 ml) se agitó bajo una atmósfera de monóxido de carbono (55 psi) a 75°C (temperatura del baño de aceite) durante 15 horas. La mezcla de reacción enfriada se filtró y el filtrado se evaporó a sequedad. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice para dar crudo 2,2-difluoro-benzo[1,3]dioxol-5-ácido carboxílico éster de metilo (11,5 g), que se usó directamente en la siguiente etapa.

Paso b: (2,2-difluoro-benzo[1,3]dioxol-5-ilo)-metanol

[0118] Éster metílico de ácido 2,2-difluoro-benzo[1,3]dioxol-5-carboxílico crudo (11,5 g) disuelto en 20 ml de tetrahidrofurano anhidro (THF) se añadió lentamente a una suspensión de hidruro de litio y aluminio (4,10 g, 106 mmol) en THF anhidro (100 ml) a 0°C. La mezcla se calentó a temperatura ambiente. Después de ser agitada a temperatura ambiente durante 1 hora, la mezcla de reacción se enfrió a 0°C y se trató con agua (4,1 g), seguido de hidróxido de sodio (solución acuosa al 10%, 4,1 ml). La suspensión resultante se filtró y lavó con THF. El filtrado combinado se evaporó a sequedad y el residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice para dar (2,2-difluoro-benzo[1,3]dioxol-5-ilo)-metanol (7,2 g, 38 mmol, 76% durante dos etapas) como un aceite incoloro.

Paso c: 5-clorometilo-2,2-difluoro-benzo[1,3]dioxol

[0119] El cloruro de tionilo (45 g, 38 mmol) se añadió lentamente a una solución de (2,2-difluoro-benzo[1,3]dioxol-5-ilo)-metanol (7,2 g, 38 mmol) en diclorometano (200 ml) a 0°C. La mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente y después se evaporó a sequedad. El residuo se repartió entre una solución acuosa de bicarbonato de sodio saturado (100 ml) y diclorometano (100 ml). La capa acuosa separada se extrajo con diclorometano (150 ml) y la capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio, se filtró, y se evaporó a sequedad para dar 5-clorometilo-2,2-difluoro-benzo[1,3]dioxol (4,4 g) que se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Paso d: (2,2-difluoro-benzo[1,3]dioxol-5-ilo)-acetonitrilo

[0120] Una mezcla de 5-clorometilo-2,2-difluoro-benzo[1,3]dioxol (4,4 g) y cianuro de sodio (1,36 g, 27,8 mmol) en dimetilsulfóxido (50 ml) se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se vertió en hielo y se extrajo con acetato de etilo (300 ml). La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio y se evaporó a sequedad para dar crudo (2,2-difluoro-benzo[1,3]dioxol-5-ilo)-acetonitrilo (3,3 g) que se usó directamente en la siguiente etapa.

Paso e: 1-(2,2-difluoro-benzo[1,3]dioxol-5-ilo)-ciclopropanocarbonitrilo

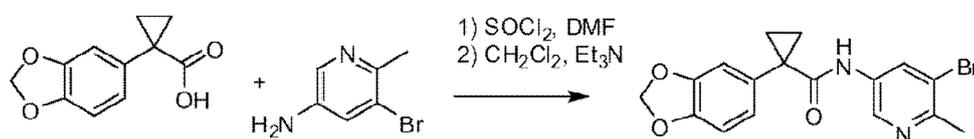
[0121] El hidróxido de sodio (solución acuosa al 50%, 10 ml) se añadió lentamente a una mezcla de (2,2-difluoro-benzo[1,3]dioxol-5-ilo)-acetonitrilo crudo, cloruro de benciltrietilamonio (3,00 g, 15,3 mmol), y 1-bromo-2-cloroetano (4,9 g, 38 mmol) a 70°C. La mezcla se agitó durante la noche a 70°C antes de que la mezcla de reacción se diluyó con agua (30 ml) y se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se evaporaron a sequedad para dar 1-(2,2-difluoro-benzo[1,3]dioxol-5-ilo)-ciclopropanocarbonitrilo, que se usó directamente en la siguiente etapa.

Paso f: 1-(2,2-difluoro-benzo[1,3]dioxol-5-ilo)ácido ciclopropanocarboxílico

[0122] 1-(2,2-difluoro-benzo[1,3]dioxol-5-ilo)-ciclopropanocarbonitrilo (en bruto de la última etapa) se sometió a reflujo en hidróxido de sodio acuoso al 10% (50 ml) durante 2,5 horas. La mezcla de reacción enfriada se lavó con éter (100 ml) y la fase acuosa se acidificó a pH 2 con ácido clorhídrico. El sólido precipitado se filtró para dar 1-(benzo 2,2-difluoro-[1,3]dioxol-5-ilo)ácido ciclopropanocarboxílico como un sólido blanco (0,15 g, 1,6% en cuatro pasos). ESI-MS *m/z* calc. 242,04, encontrado 241,58 (M+1)⁺; ¹H RMN (CDCl₃) δ 7,14-7,04 (m, 2H), 6,98-6,96 (m, 1H), 1,74-1,64 (m, 2H), 1,26-1,08 (m, 2H).

Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(5-bromo-6-metilpiridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida

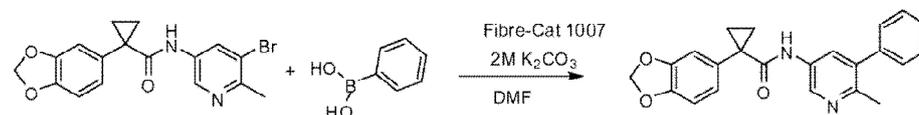
[0123]



[0124] Ácido 1-Benzo[1,3]dioxol-5-ilo-ciclopropanocarboxílico (2,76 g, 13,4 mmol) se colocó en un matraz secado al horno bajo nitrógeno. El cloruro de tionilo (3,0 ml) y *N,N*-dimetilformamida (0,3 ml) se añadieron y la solución se dejó en agitación durante 10 minutos a temperatura ambiente. El exceso de cloruro de tionilo se eliminó a vacío y el sólido resultante se suspendió en 10 ml de diclorometano anhidro. Después, esta solución se añadió lentamente a una solución de 5-bromo-6-metilpiridina-3-amina (2,50 g, 13,4 mmol) en 10 ml de diclorometano anhidro que contenía trietilamina (5,64 ml, 40,2 mmol). La mezcla resultante se dejó en agitación durante 10 minutos a temperatura ambiente. Después, el producto bruto se lavó tres veces con una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio, seguido de dos lavados con una solución acuosa saturada de cloruro de sodio. La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio, se evaporó hasta sequedad, y se utilizó el polvo de color amarillo resultante (3,62 g, 9,65 mmol, 72,0%) sin purificación adicional. ESI-MS *m/z* calc. 374,0, encontrado; 375,1 (M+1)⁺ Tiempo de retención 2,30 minutos. ¹H RMN (400 MHz, CD₃CN) δ 8,38 (d, J = 2,2 Hz, 1H), 8,14 (d, J = 2,2 Hz, 1H), 7,80-7,60 (m, 1H), 7,08-6,95 (s, 2H), 6,89 (dd, J = 1,2, 7,3 Hz, 1H), 6,01 (s, 2H), 2,54 (s, 3H), 1,59-1,50 (m, 2H), 1,19-1,09 (m, 2H).

Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-metilo-5-fenilpiridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida

[0125]

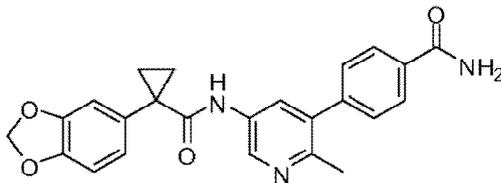


[0126] 1-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(5-bromo-6-metilpiridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida (38 mg, 0,10 mmol) se disolvió en 1 ml de *N,N*-dimetilformamida (DMF) que contiene 0,2 ml de una solución acuosa 2 M de carbonato de potasio y 12 mg de Fibre-Cat 1007. La mezcla de reacción se calentó entonces a 80°C durante 16 horas. El material resultante se enfrió a temperatura ambiente, se filtró, y se purificó por cromatografía líquida preparativa de fase inversa utilizando un gradiente de 0-99% de acetonitrilo en agua que contiene ácido trifluoroacético al 0,05% para producir el producto puro. ESI-MS *m/z* calc. 372,2, encontrado 373,2 (M+1)⁺. Tiempo de retención 1,80 minutos.

Preparación de 4-(5-(1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)ciclopropanocarboxamido)-2-metilpiridina-3-ilo)benzamida

[0127]

5



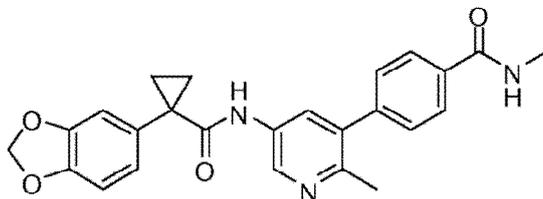
10

[0128] 4-(5-(1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)ciclopropanocarboxamido)-2-metilpiridina-3-ilo)benzamida a partir de ácido 4-carbamoilfenilborónico y 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(5-bromo-6-metilpiridina-3-ilo)ciclopropano-carboxamida de una manera análoga a la de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-metilo-5-fenilpiridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida.

Preparación de 4-(5-(1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)ciclopropanocarboxamido)-2-metilpiridina-3-ilo)-N-metilbenzamida

[0129]

20



25

[0130] 4-(5-(1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)ciclopropanocarboxamido)-2-metilpiridina-3-ilo)-N-metilbenzamida se preparó a partir de 4-(metilcarbamoilo) ácido fenilborónico y clorhidrato de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(5-bromo-6-metilpiridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida de una manera análoga a la de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-metilo-5-fenilpiridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida

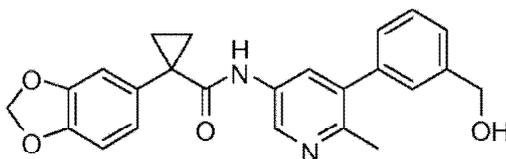
30

Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(5-(3-(hidroximetilo)fenilo)-6-metilpiridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida

35

[0131]

40



45

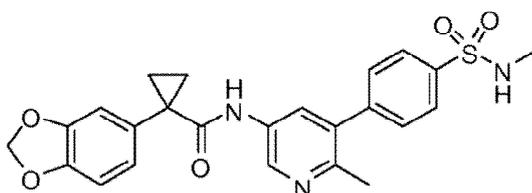
[0132] 1-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(5-(3-(hidroximetilo)fenilo)-6-metilpiridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida se preparó a partir de 3-(hidroximetilo)ácido fenilborónico y clorhidrato de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(5-bromo-6-metilpiridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida de una manera análoga a la de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-metilo-5-fenilpiridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida.

50

Preparación de 1-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-metilo-5-(4-(N-metilsulfamoilo)fenilo)piridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida

[0133]

60



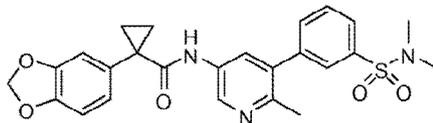
65

[0134] 1-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-metilo-5-(4-(N-metilsulfamoilo)fenilo)piridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida

se preparó a partir de 4-(*N*-metilsulfamoilo)ácido fenilborónico y clorhidrato de 1-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-*N*-ciclopropanocarboxamida (5-bromo-6-metilpiridina-3-ilo) de una manera análoga a la de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-*N*-(6-metilo-5-fenilpiridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida.

5 **Preparación de 1-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-*N*-(5-(3-(*N,N*-dimetilsulfamoilo)fenilo)-6-metilpiridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida**

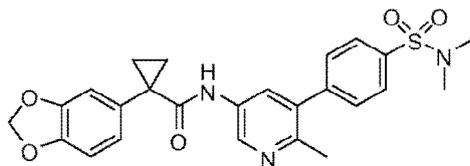
[0135]



1-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-*N*-(5-(3-(*N,N*-dimetilsulfamoilo)fenilo)-6-metilpiridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida se preparó a partir de 3-(*N,N*-dimetilsulfamoilo)ácido fenilborónico y clorhidrato de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-*N*-(5-bromo-6-metilpiridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida de una manera análoga a la de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-*N*-(6-metilo-5-fenilpiridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida.

20 **Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-*N*-(5-(4-(*N,N*-dimetilsulfamoilo)fenilo)-6-metilpiridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida**

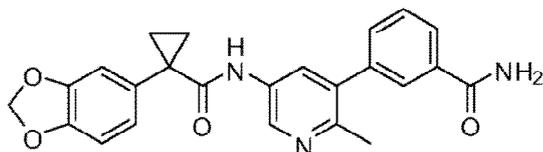
[0137]



1-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-*N*-(5-(4-(*N,N*-dimetilsulfamoilo)fenilo)-6-metilpiridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida se preparó a partir de 4-(*N,N*-dimetilsulfamoilo)ácido fenilborónico y clorhidrato de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-*N*-ciclopropanocarboxamida (5-bromo-6-metilpiridina-3-ilo) de una manera análoga a la de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-*N*-(6-metilo-5-fenilpiridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida.

35 **Preparación de 3-(5-(1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)ciclopropanocarboxamido)-2-metilpiridina-3-ilo)benzamida**

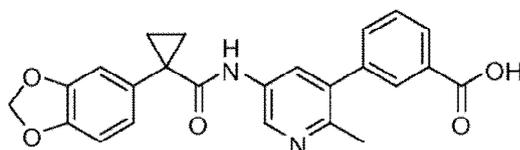
[0139]



3-(5-(1-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)ciclopropanocarboxamido)-2-metilpiridina-3-ilo)benzamida a partir de ácido 3-carbamoilfenilborónico y 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-*N*-(5-bromo-6-metilpiridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida de una manera análoga a la de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-*N*-(6-metilo-5-fenilpiridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida.

55 **Preparación de ácido 3-(5-(1-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)ciclopropanocarboxamido)-2-metilpiridina-3-ilo)benzoico**

[0141]



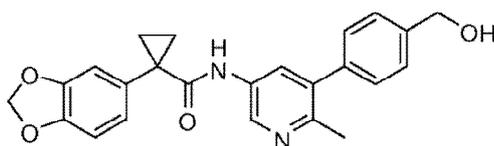
Ácido 3-(5-(1-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)ciclopropanocarboxamido)-2-metilpiridina-3-ilo)benzoico se preparó a

partir de ácido 3-boronobenzoico y 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(5-bromo-6-metilpiridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida de una manera análoga a la de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-metilo-5-fenilpiridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida.

5 **Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(5-(4-(hidroximetilo)fenilo)-6-metilpiridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida**

[0143]

10



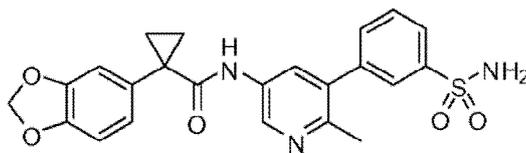
15

[0144] 1-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(5-(4-(hidroximetilo)fenilo)-6-metilpiridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida se preparó a partir de 4-(hidroximetilo)ácido fenilborónico y clorhidrato de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(5-bromo-6-metilpiridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida de una manera análoga a la de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-metilo-5-fenilpiridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida.

20

Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-metilo-5-(3-sulfamoilfenilo)piridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida

25 [0145]



30

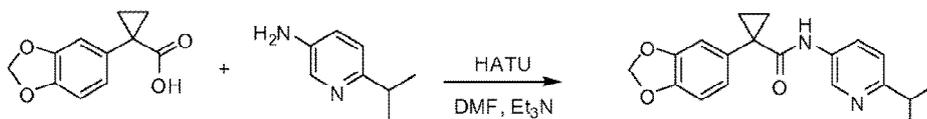
[0146] 1-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-metilo-5-(3-sulfamoilfenilo)piridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida se preparó a partir de ácido 3-sulfamoilfenilborónico y 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(5-bromo-6-metilpiridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida de una manera análoga a la de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-metilo-5-fenilpiridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida.

35

Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-isopropilpiridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida

40

[0147]



45

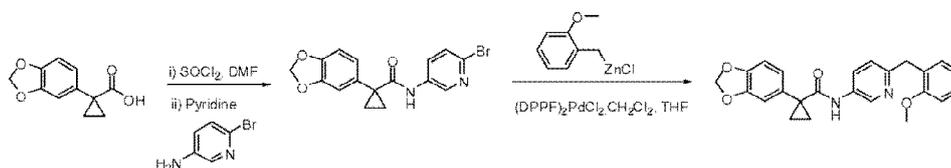
[0148] Ácido 1-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)ciclopropanocarboxílico (20,6 mg, 0,100 mmol) y 6-isopropilpiridina-3-amina (13,6 g, 0,100 mmol) se disolvieron en *N,N*- dimetilformamida (DMF, 1 ml) que contenía trietilamina (0,042 ml, 0,300 mmol). *O*-(7-azabenzotriazol-1-ilo)-*N,N,N'* *N'* tetrametiluronio (HATU, 39,9 mg, 0,105 mmol) y la solución se dejó en agitación durante 3 horas. La mezcla se purificó a continuación por cromatografía líquida preparativa de fase inversa utilizando un gradiente de 0-99% de acetonitrilo en agua que contiene ácido trifluoroacético al 0,05% para producir el producto puro. ESI-MS *m/z* calc. 324,2, encontrado 325,3 (M+1)⁺. Tiempo de retención 2,14 minutos.

50

55 **Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-(2-metoxibencilo)piridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida**

[0149]

60



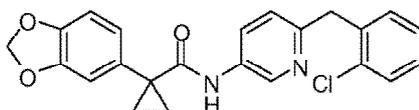
65

Paso a: 1-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-bromopiridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida

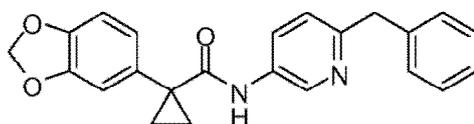
[0150] A 1-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo) se añadieron ácido ciclopropanocarboxílico (9,50 g, 46,00 mmol), cloruro de tionilo (10,00 ml, 138,00 mmol) y DMF (4 gotas) y la mezcla se agitó y se calentó a 60°C durante treinta minutos. El exceso de cloruro de tionilo se evaporó a presión reducida. Una porción del cloruro de ácido (23,20 mmol) se disolvió en piridina (15 ml) y se añadió lentamente a 6-bromopiridina-3-amina (23,20 mmol) en piridina (10 ml). La mezcla de reacción se agitó a 110°C durante una hora y treinta minutos. La piridina se evaporó a presión reducida. La mezcla resultante se disolvió en diclorometano (200 ml) y se lavó con 1 N NaOH (4 x 50 ml). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se evaporó bajo presión reducida. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice para dar 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-bromopiridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida (4 g, 48%).

Paso b: 1-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-(2-metoxibencilo)piridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida

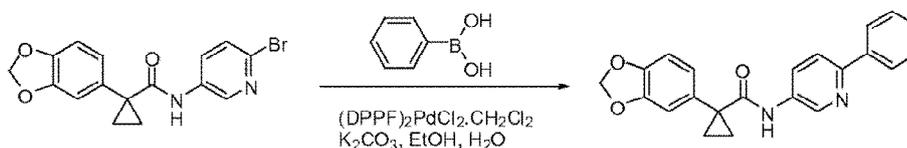
[0151] Una solución de (2-metoxibencilo)cloruro de zinc (II) (4,44 ml, 0,5 M, 2,20 mmol) en THF y (DPPF)₂PdCl₂.CH₂Cl₂ (45 mg, 0,056 mmol) se agitó a temperatura ambiente durante 20 minutos. Para esto, una suspensión de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-bromopiridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida (200 mg, 0,56 mmol) en THF (4 ml) se añadió y la mezcla de reacción se calentó a 150°C en un reactor de microondas durante 10 minutos. El material resultante se enfrió a temperatura ambiente. Na₂EDTA y solución acuosa saturada de NH₄Cl se añadieron a la reacción y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. El producto se extrajo usando diclorometano. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se evaporó bajo presión reducida. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice para producir 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-(2-metoxibencilo)piridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida (152 mg, 68%).

Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-(2-clorobencilo)piridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida**[0152]**

[0153] 1-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-(2-clorobencilo)piridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida se sintetizó utilizando el procedimiento de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-(2-metoxibencilo)piridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida a partir de (2-clorobencilo)zinc(II) cloruro y 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-bromopiridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida.

Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-bencilpiridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida**[0154]**

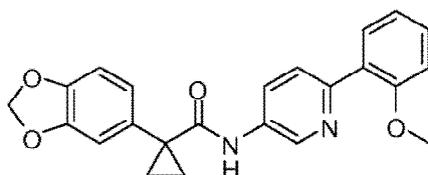
[0155] 1-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-bencilpiridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida se sintetizó usando el procedimiento de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-(2-metoxibencilo)piridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida usando bencilzinc(II) bromuro y 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-bromopiridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida.

Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-fenilpiridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida**[0156]**

[0157] Para 1-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-bromopiridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida (72 mg, 0,20 mmol), fenilo-ácido borónico (16 mg, 0,13 mmol), K₂CO₃ (19 mg, 0,14 mmol) y (DPPF)₂PdCl₂.CH₂Cl₂ (6 mg, 0,007 mmol), etanol (545 uL) y agua (55 uL) se añadieron. La mezcla de reacción se calentó a 150°C en un reactor de microondas durante 10 minutos. El material resultante se enfrió a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se diluyó con diclorometano, se filtró, y el filtrado se concentró. El producto bruto se disolvió en DMSO (1 ml), se filtró y se purificó por HPLC preparativa de fase inversa para producir 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-fenilpiridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida como una sal de TFA (8,5 mg, 0,018 mmol, 13%).

Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-(2-metoxifenilo)piridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida

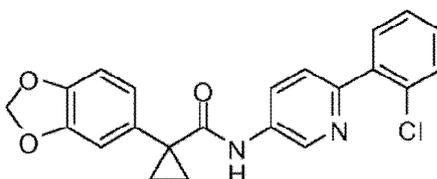
[0158]



[0159] 1-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-(2-metoxifenilo)piridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida se sintetizó utilizando el procedimiento de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-fenilpiridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida de 2-metoxifenilborónico y clorhidrato de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-bromopiridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida.

Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-(2-clorofenil)piridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida

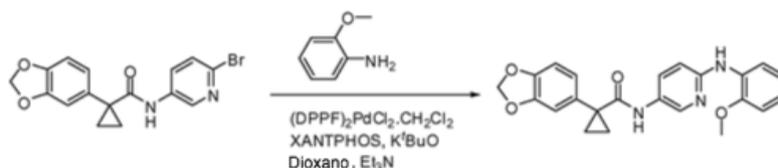
[0160]



[0161] 1-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-(2-clorofenil)piridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida se sintetizó utilizando el procedimiento de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-fenilpiridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida a partir de ácido 2-clorofenilborónico y 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-bromopiridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida.

Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-(2-metoxifenilamino)piridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida

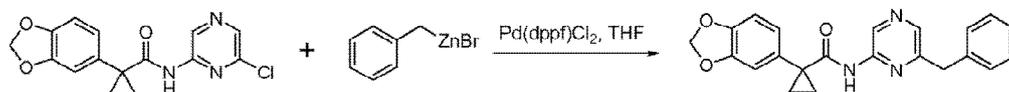
[0162]



[0163] A 1-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-bromopiridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida (72 mg, 0,2 mmol) en dioxano (0,400 ml), XANTPHOS (2,3 mg, 0,004 mmol), K^tBuO (31 mg, 0,28 mmol), (DPPF)₂PdCl₂.CH₂Cl₂ (3,00 mg, 0,004 mmol), y 2-metoxianilina (30 mg, 0,24 mmol), y Et₃N (0,200 ml) se añadieron. La mezcla de reacción se calentó a 150°C en un reactor de microondas durante 10 minutos. El material resultante se enfrió a temperatura ambiente. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice para dar 1-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-(2-metoxifenilamino)piridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida que después se trató con HCl en MeOH para formar la sal HCl (2,3 mg, 0,0053 mmol, 2,7%). ESI-MS *m/z* calc. 403,2, encontrado; 404,5 (M+1)⁺ tiempo de retención 2,29 minutos.

Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-bencilpirazina-2-ilo)ciclopropanocarboxamida**[0164]**

5



10

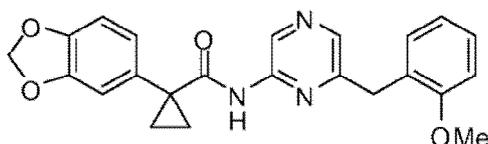
[0165] A una solución de bencilcinc 0,5 M (II) se añadió bromuro en THF (0,8 ml, 0,4 mmol) de [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II) (8 mg, 0,01 mmol) y la reacción se agitó bajo nitrógeno durante 20 minutos. (Benzo[1-d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-cloropirazina-2-ilo)ciclopropanocarboxamida (32 mg, 0,1 mmol) se añadió y la reacción se irradió en un reactor de microondas durante 10 minutos a 150°C. La reacción se interrumpió con una solución saturada de cloruro de amonio (2 ml) y una solución de sal disódica del ácido etilendiaminotetraacético saturado (2 ml). La mezcla se agitó durante 30 minutos antes de que se extrajo con diclorometano (3 x 4 ml). Los orgánicos se secaron sobre Na₂SO₄ y se evaporaron. El producto bruto se disolvió en DMSO (1 ml) y se purificó por cromatografía de fase inversa preparativa líquida utilizando un gradiente de 0-99% de acetonitrilo en agua que contiene ácido trifluoroacético al 0,05% para producir el producto puro (2,0 mg, 0,0054 mmol, 5,4%). ESI-MS *m/z* calc. 373,14, encontrado 374,1 (M+1)⁺; tiempo de retención 3,32 minutos.

15

20

Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-(2-metoxibencil)pirazina-2-ilo)ciclopropanocarboxamida**[0166]**

30

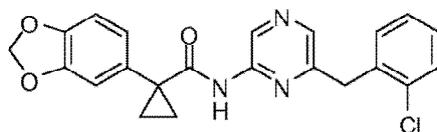


35

[0167] El compuesto del título se hizo en un procedimiento similar como se informó para 1-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-bencilpirazina-2-ilo)ciclopropanocarboxamida a partir de (2-metoxibencil)zinc(II) de cloruro y 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-cloropirazina-2-ilo)ciclopropanocarboxamida.

Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-(2-clorobencil)pirazina-2-ilo)ciclopropanocarboxamida**[0168]**

45

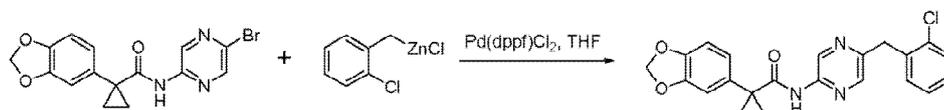


50

[0169] El compuesto del título se preparó usando un procedimiento similar como se informó para 1-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-bencilpirazina-2-ilo)ciclopropanocarboxamida a partir de (2-clorobencil)zinc(II) de cloruro y 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-cloropirazina-2-ilo)ciclopropanocarboxamida.

Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(5-(2-clorobencil)pirazina-2-ilo)ciclopropanocarboxamida**[0170]**

60



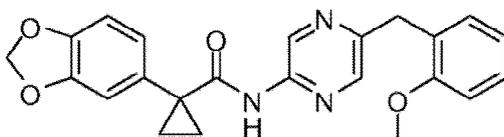
65

[0171] A una solución 0,5 M de cloruro de (2-clorobencil) zinc (II) en THF (0,8 ml, 0,4 mmol) se añadió [1,1'-

bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II) (8 mg, 0,01 mmol) y la reacción se agitó bajo nitrógeno durante 20 minutos. 1-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(5-bromopirazina-2-ilo)ciclopropanocarboxamida (36 mg, 0,10 mmol) se añadió y la reacción se irradió en el microondas durante 10 minutos a 150°C. La reacción se interrumpió con una solución saturada de cloruro de amonio (2 ml) y una solución de sal disódica del ácido etilendiaminotetraacético saturado (2 ml). La mezcla se agitó durante 30 minutos antes de que se extrajo con diclorometano (3 x 4 ml). Los orgánicos se secaron sobre Na₂SO₄ y se evaporaron. El producto bruto se disolvió en DMSO (1 ml) y se purificó por cromatografía líquida preparativa de fase inversa utilizando un gradiente de 0-99% de acetonitrilo en agua que contiene ácido trifluoroacético al 0,05% para producir el producto puro (16 mg, 0,039 mmol, 39%). ESI-MS *m/z* calc. 407,1, encontrado 408,2 (M+1)⁺; tiempo de retención 3,82 minutos.

Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(5-(2-metoxibencilo)pirazina-2-ilo)ciclopropanocarboxamida

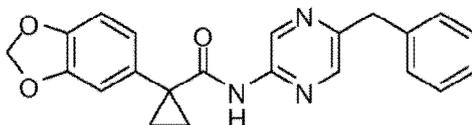
[0172]



[0173] El compuesto del título se preparó usando un procedimiento similar al descrito para 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(5-(2-clorobencilo)pirazina-2-ilo)ciclopropanocarboxamida a partir de (2-metoxibencilo)zinc(II) de cloruro y 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(5-bromopirazina-2-ilo)ciclopropanocarboxamida.

Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(5-bencilpirazina-2-ilo)ciclopropanocarboxamida

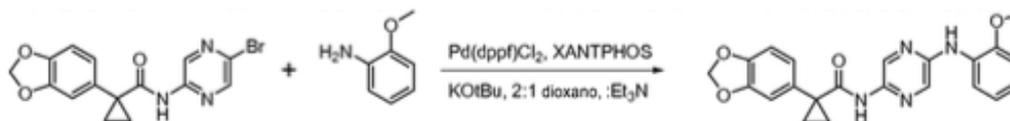
[0174]



[0175] El compuesto del título se preparó usando un procedimiento similar como se informó para 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(5-(2-clorobencilo)pirazina-2-ilo)ciclopropanocarboxamida de bromuro de bencilcinc (II) y 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(5-bromopirazina-2-ilo)ciclopropanocarboxamida.

Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(5-(2-metoxifenilamino)pirazina-2-ilo)ciclopropanocarboxamida

[0176]

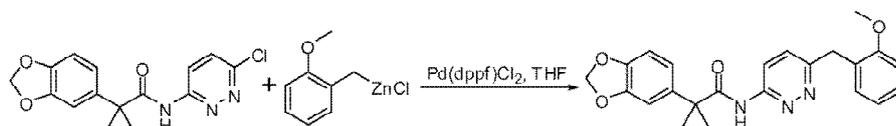


[0177] A una solución de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(5-bromopirazina-2-ilo)ciclopropanocarboxamida (72 mg, 0,2 mmol), 2-metoxianilina (30 mg, 0,24 mmol), y potasio *terc*-butóxido (31 mg, 0,28 mmol) en 2: 1 dioxano: Et₃N (1,8 ml) se añadió [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II) (1,6 mg, 0,0020 mmol) y XANTPHOS (1,2 mg, 0,0020 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 80°C durante 18 horas. La mezcla de reacción se filtró y se purificó por cromatografía líquida preparativa de fase inversa utilizando un gradiente de 0-99% de acetonitrilo en agua que contiene ácido trifluoroacético al 0,05% para producir el producto puro (32 mg, 0,079 mmol, 39%). ESI-MS *m/z* calc. 404,1, encontrado 405,3 (M+1)⁺; tiempo de retención 3,61 minutos.

Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-(2-metoxibencilo)piridazina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida

[0178]

5



10

15

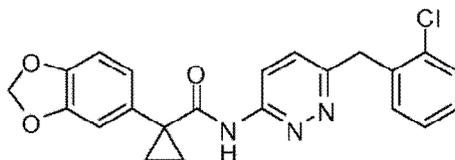
[0179] A una solución 0,5 M de cloruro de (2-metoxibencilo) zinc (II) en THF (0,8 ml, 0,4 mmol) se añadió [1,1'-bis (difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II) (8 mg, 0,01 mmol) y la reacción se agitó bajo nitrógeno durante 20 minutos. 1-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-cloropiridazina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida (32 mg, 0,1 mmol) se añadió y la reacción se irradió en el microondas durante 10 minutos a 150°C. La reacción se interrumpió con una solución saturada de cloruro de amonio (2 ml) y una solución de sal disódica del ácido etilendiaminotetraacético saturado (2 ml). La mezcla se agitó durante 30 minutos antes de que se extrajo con diclorometano (3 x 4 ml). Los orgánicos se secaron sobre Na₂SO₄ y se evaporaron. El producto bruto se disolvió en DMSO (1 ml) y se purificó por cromatografía líquida preparativa de fase inversa utilizando un gradiente de 0-99% de acetonitrilo en agua que contiene ácido trifluoroacético al 0,05% para producir el producto puro (21 mg, 0,052 mmol, 52%). ESI-MS *m/z* calc. 379,2, encontrado 380,3 (M+1)⁺; tiempo de retención 3,54 minutos.

20

Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-(2-clorobencilo)piridazina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida

[0180]

25



30

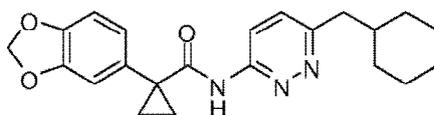
35

[0181] El compuesto del título se preparó usando un procedimiento similar como se informó para 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-(2-metoxibencilo)piridazina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida a partir de (2-clorobencilo) cloruro de zinc (II) y 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-cloropiridazina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida.

Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-(ciclohexilmetil)piridazina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida

[0182]

40



45

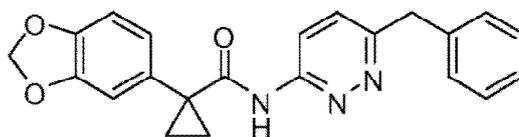
50

[0183] El compuesto del título se realizó en un procedimiento similar como se informó para 1-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-(2-metoxibencilo)piridazina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida bromuro de (ciclohexilmetil)zinc(II) y 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-cloropiridazina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida.

Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-bencilpiridazina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida

[0184]

55



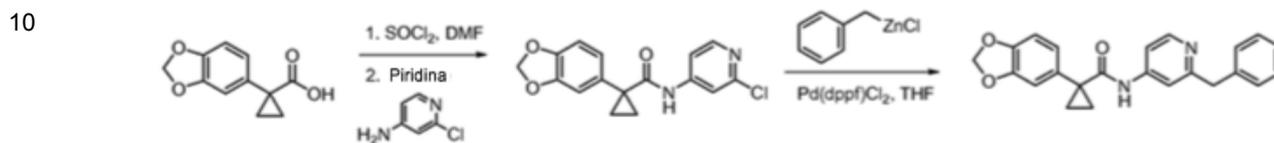
60

65

[0185] El compuesto del título se preparó usando un procedimiento similar como se informó para 1-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-ilo)-*N*-(6-(2-metoxibencilo)piridazina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida de bromuro de bencilcinc (II) y 1-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-ilo)-*N*-(6-cloropiridazina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida.

5 Preparación de 1-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-ilo)-*N*-(2-bencilpiridina-4-ilo)ciclopropanocarboxamida

[0186]



Paso a: 1-(Benzo[*d*][1,3]dioxol-5-ilo)-*N*-(2-cloropiridin-4-ilo)ciclopropano-carboxamida

20 [0187] Para 1-(Benzo[*d*][1,3]dioxol-5-ilo)ácido ciclopropanocarboxílico (1,5 g, 7,3 mmol) en cloruro de tionilo (1,6 ml, 21,8 mmol) se añadió *N,N*-formamida de dimetilo (100 mL). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos antes de que se evaporó a sequedad para dar el cloruro de ácido deseado. El cloruro de ácido se añadió a una solución de 2-cloropiridina-4-amina (0,94 g, 7,3 mmol) en piridina (10 ml). La reacción se calentó a 100°C durante 12 h. La reacción se diluyó con diclorometano (30 ml) y se lavó con 1 N NaOH (3 x 20 ml). Los orgánicos se secaron sobre Na₂SO₄ y se evaporaron a sequedad. El material en bruto se purificó por cromatografía en gel de sílice (eluyendo con acetato de etilo al 0-50% en hexanos) para dar el producto deseado. ESI-MS *m/z* calc. 316,06, encontrado 317,1 (M+1)⁺. Tiempo de retención 2,97 minutos.

25

Paso b: 1-(Benzo[*d*][1,3]dioxol-5-ilo)-*N*-(2-bencilpiridina-4-ilo)ciclopropano-carboxamida

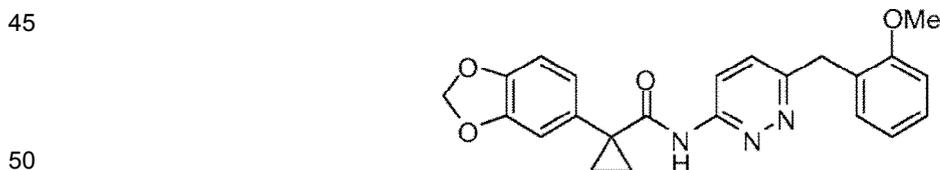
30 [0188] A una solución de bromuro de bencilcinc 0,5 M (II) en THF (0,8 ml, 0,4 mmol) se añadió [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II) (8 mg, 0,01 mmol) y la reacción se agitó bajo nitrógeno durante 20 minutos. (Benzo[1-*d*][1,3]dioxol-5-ilo)-*N*-(2-cloropiridina-4-ilo)ciclopropanocarboxamida (32 mg, 0,10 mmol) se añadió y la reacción se irradió en el microondas - durante 10 minutos a 150°C. La reacción se interrumpió con una solución saturada de cloruro de amonio (2 ml) y una solución de sal disódica del ácido etilendiaminotetraacético saturado (2 ml). La mezcla se agitó durante 30 minutos antes de que se extrajo con diclorometano (3 x 4 ml). Los orgánicos se secaron sobre Na₂SO₄ y se evaporaron. El producto bruto se disolvió en DMSO (1 ml) y se purificó por cromatografía de fase inversa preparativa líquida utilizando un gradiente de 0-99% de acetonitrilo en agua que contiene ácido trifluoroacético al 0,05% para producir el producto puro (18 mg, 0,048 mmol, 48%). ESI-MS *m/z* calc. 372,1, encontrado 373,3 (M+1)⁺; tiempo de retención 2,44 minutos.

35

40

Preparación de 1-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-ilo)-*N*-(2-(2-metoxibencilo)piridina-4-ilo)ciclopropanocarboxamida

[0189]

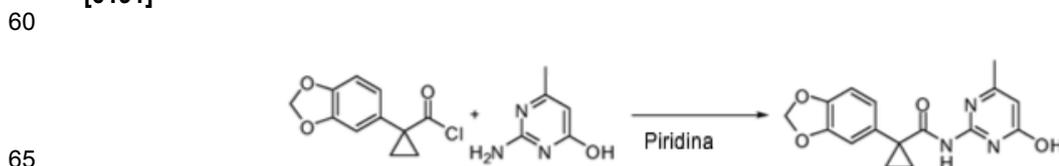


[0190] El compuesto del título se preparó usando un procedimiento similar como se informó para 1-(Benzo[*d*][1,3]dioxol-5-ilo)-*N*-(2-bencilpiridina-4-ilo)ciclopropanocarboxamida a partir de (2-metoxibencilo)zinc(II) de cloruro y 1-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-ilo)-*N*-(2-cloropiridina-4-ilo)ciclopropano-carboxamida.

55

Preparación de 1-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-ilo)-*N*-(4-hidroxi-6-metilpirimidina-2-ilo)ciclopropanocarboxamida

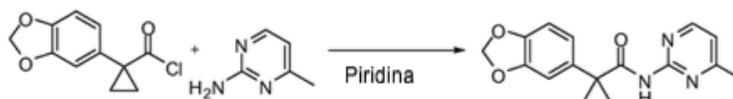
[0191]



[0192] Para 1-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo) se añadió cloruro de ciclopropanocarbonilo (45 mg, 0,2 mmol) en piridina (2 ml) 2-amino-6-metilpirimidina-4-ol (25 mg, 0,2 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a 115°C durante 15 horas. El disolvente se evaporó a sequedad y el residuo se redisolvió en DMF, se filtró y se purificó por cromatografía líquida preparativa de fase inversa utilizando un gradiente de 0-99% de acetonitrilo en agua que contiene ácido trifluoroacético al 0,05% para producir el producto puro. ESI-MS m/z calc. 313,1, encontrado 314,1 (M+1)⁺. Tiempo de retención 2,31 minutos.

Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(4-metilpirimidina-2-ilo)ciclopropanocarboxamida

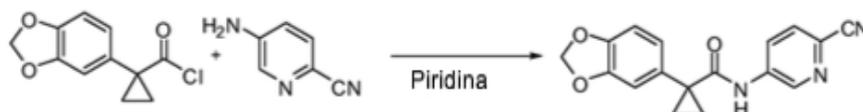
[0193]



[0194] Para 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)cloruro de ciclopropanocarbonilo (45 mg, 0,2 mmol) se añadió en piridina (2 ml) 4-metilpirimidina-2-amina (22 mg, 0,2 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a 115°C durante 15 horas. El disolvente se evaporó a sequedad y el residuo se redisolvió en DMF, se filtró y se purificó por cromatografía líquida preparativa de fase inversa utilizando un gradiente de 0-99% de acetonitrilo en agua que contiene ácido trifluoroacético al 0,05% para producir el producto puro. ESI-MS m/z calc. 297,3, encontrado 298,3 (M+1)⁺. Tiempo de retención 2,14 minutos.

Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-cianopiridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida

[0195]



[0196] Para 1-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo) se añadió cloruro de ciclopropanocarbonilo (45 mg, 0,2 mmol) en piridina (2 ml) 5-aminopicolinonitrilo (24 mg, 0,2 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a 115°C durante 15 horas. El disolvente se evaporó a sequedad y el residuo se redisolvió en DMF, se filtró y se purificó por cromatografía líquida preparativa de fase inversa utilizando un gradiente de 0-99% de acetonitrilo en agua que contiene ácido trifluoroacético al 0,05% para producir el producto puro. ESI-MS m/z calc. 307,3, encontrado 308,3 (M+1)⁺. Tiempo de retención 2,87 minutos.

Preparación de 1-(benzo[d][1,3]-5-ilo dioxol)-N-(2,6-dimetoxi-4-ilo)ciclopropanocarboxamida

[0197]

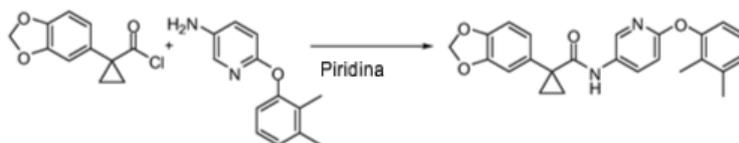


[0198] Para 1-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)cloruro de ciclopropanocarbonilo (45 mg, 0,2 mmol) se añadió en piridina (2 ml) de 2,6-dimetoxi-4-amina (31 mg, 0,2 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a 115°C durante 15 horas. El disolvente se evaporó a sequedad y el residuo se redisolvió en DMF, se filtró y se purificó por cromatografía líquida preparativa de fase inversa utilizando un gradiente de 0-99% de acetonitrilo en agua que contiene ácido trifluoroacético al 0,05% para producir el producto puro. ESI-MS m/z calc. 343,3, encontrado 344,1 (M+1)⁺. Tiempo de retención 2,87 minutos.

Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(6-(2,3-dimetilfenoxi)piridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida

[0199]

5

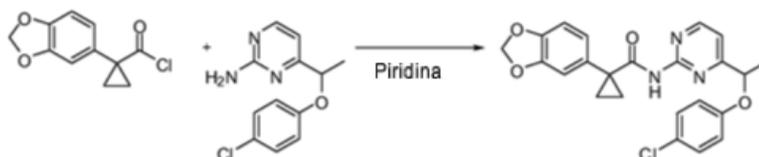


10 **[0200]** Para 1-(Benzo[*d*][1,3]dioxol-5-ilo)cloruro de ciclopropanocarbonilo (45 mg, 0,2 mmol) en piridina (2 ml) se
añadió 6-(2,3-dimetilfenoxi)piridina-3-amina (43 mg, 0,2 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a 115°C durante 15
15 horas. El disolvente se evaporó a sequedad y el residuo se redisolvió en DMF, se filtró y se purificó por
cromatografía líquida preparativa de fase inversa utilizando un gradiente de 0-99% de acetonitrilo en agua que
contiene ácido trifluoroacético al 0,05% para producir el producto puro. ESI-MS *m/z* calc. 402,4, encontrado 403,1
(*M*+1)⁺. Tiempo de retención 3,11 minutos.

Preparación de 1-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(4-(1-(4-clorofenoxi)etilo)pirimidina-2-ilo)ciclopropanocarboxamida

20 **[0201]**

25

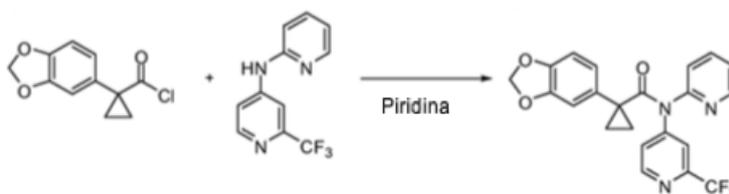


30 **[0202]** Para 1-(Benzo[*d*][1,3]dioxol-5-ilo)cloruro de ciclopropanocarbonilo (45 mg, 0,2 mmol) en piridina (2 ml) se
añadió 4-(1-(4-clorofenoxi)etilo)pirimidina-2-amina (50 mg, 0,2 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a 115°C
durante 15 horas. El disolvente se evaporó a sequedad y el residuo se redisolvió en DMF, se filtró y se purificó por
35 cromatografía líquida preparativa de fase inversa utilizando un gradiente de 0-99% de acetonitrilo en agua que
contiene ácido trifluoroacético al 0,05% para producir el producto puro. ESI-MS *m/z* calc. 437,9, encontrado 438,1
(*M*+1)⁺. Tiempo de retención 3,16 minutos.

Preparación de 1-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(piridin-2-ilo)-N-(2-(trifluorometilo)piridina-4-ilo)ciclopropanocarboxamida

40 **[0203]**

45

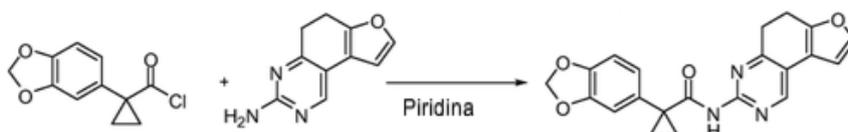


50 **[0204]** Para 1-(Benzo[*d*][1,3]dioxol-5-ilo)cloruro de ciclopropanocarbonilo (45 mg, 0,2 mmol) en piridina (2 ml) se
añadió N-(2-(trifluorometilo)piridina-4-ilo)piridin-2-amina (48 mg, 0,2 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a
115°C durante 15 horas. El disolvente se evaporó a sequedad y el residuo se redisolvió en DMF, se filtró y se
purificó por cromatografía líquida preparativa de fase inversa utilizando un gradiente de 0-99% de acetonitrilo en
55 agua que contiene ácido trifluoroacético al 0,05% para producir el producto puro. ESI-MS *m/z* calc. 427,4,
encontrado 428,1 (*M*+1)⁺. Tiempo de retención 2,91 minutos.

Preparación de 1-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(5,6-dihidrofuro[2,3-*h*]quinazolina-2-ilo)ciclopropanocarboxamida

60 **[0205]**

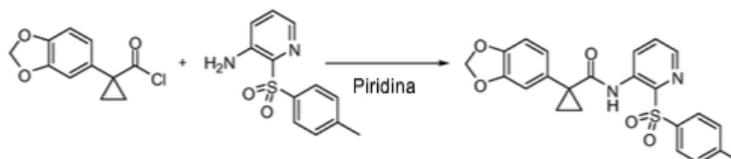
65



[0206] Para 1-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo) se añadió cloruro de ciclopropanocarbonilo (45 mg, 0,2 mmol) en piridina (2 ml) 5,6-dihidrofuro[3,2-f]quinazolina-3-amina (37 mg, 0,2 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a 115°C durante 15 horas. El disolvente se evaporó a sequedad y el residuo se redisolvió en DMF, se filtró y se purificó por cromatografía líquida preparativa de fase inversa utilizando un gradiente de 0-99% de acetonitrilo en agua que contiene ácido trifluoroacético al 0,05% para producir el producto puro. ESI-MS m/z calc. 375,4, encontrado 375,1 (M+1)⁺. Tiempo de retención 2,61 minutos.

Preparación de 1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(2-tosilpiridina-3-ilo)ciclopropanocarboxamida

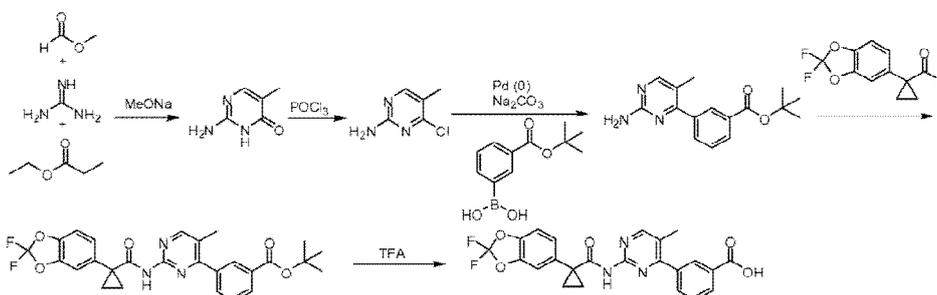
[0207]



[0208] A 1-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)cloruro de ciclopropanocarbonilo (45 mg, 0,2 mmol) en piridina (2 ml) se añadió 2-tosilpiridina-3-amina (50 mg, 0,2 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a 115°C durante 15 horas. El disolvente se evaporó a sequedad y el residuo se redisolvió en DMF, se filtró y se purificó por cromatografía líquida preparativa de fase inversa utilizando un gradiente de 0-99% de acetonitrilo en agua que contiene ácido trifluoroacético al 0,05% para producir el producto puro. ESI-MS m/z calc. 436,5, encontrado 437,1 (M+1)⁺. Tiempo de retención 3,16 minutos.

Preparación de ácido 3-(2-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)ciclopropanocarboxamido)-5-metilpirimidina-4-ilo)benzoico

[0209]



Paso a: 5-Metilisocitosina

[0210] Metóxido de sodio recién preparado (10,8 g, 200 mmol) se suspendió en una solución de propionato de etilo (15,3 g, 150 mmol) en DMF (20 ml) a temperatura ambiente. Se añadió formiato de metilo (6,0 g, 100 mmol) durante un período de 1 hora. Después de agitarse durante 30 minutos, se añadió rápidamente una solución de hidrocloreto de guanidina (9,6 g, 100 mmol) en MeOH (35 ml) y la mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 12 horas. Después de enfriarse a 30°C y ajustarse el pH a 6,0 con ácido clorhídrico concentrado, la suspensión se mantuvo a 5°C durante 30 minutos. El sólido se recogió, se lavó con metanol, se cristalizó en agua y se secó *in vacuo* para dar 5-metilisocitosina (7,3 g, 58,4% de rendimiento). ¹H RMN (300 MHz, DMSO): δ 10,83 (br s, 2 H), 7,38 (s, 1 H), 6,26 (br s, 2 H), 1,72 (s, 3 H).

Paso b: 4-cloro-2-amino-5-metilpirimidina

[0211] Una mezcla de 5-metilisocitosina (3 g, 24,0 mmol) y POCl₃ (20 ml) se calentó a reflujo durante 45 minutos. El exceso de POCl₃ se eliminó a presión reducida y el residuo se vertió sobre hielo. La mezcla resultante se hizo básica con amoníaco a 10°C. El precipitado se filtró y se cristalizó en etanol para dar 4-cloro-2-amino-5-metilpirimidina (1 g 29,0% de rendimiento). ¹H RMN (400 MHz, DMSO): δ 8,11 (s, 1 H), 6,81 (br s, 2 H), 2,04 (s, 3 H).

Paso c: *terc*-Butilo 3-(2-amino-5-metilpirimidina-4-ilo)benzoato

[0212] Para 4-cloro-5-metilpirimidina-2-amina (150 mg, 1,04 mmol), paladio de tetraquitrifenilfosfina (0) (60 mg, 0,052 mmol) y ácido 3-(*terc*-butoxicarbonilo)fenilborónico (347 mg, 1,56 mmol), 1,2-DME (3 ml) y Na₂CO₃ (1,04 ml, 2 M, 2,08 mmol) se añadieron y se calentaron a 120°C en un reactor de microondas durante 30 minutos. La mezcla de

reacción se filtró usando EtOAc y el filtrado se secó sobre Na_2SO_4 anhidro y se evaporó bajo presión reducida. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice para dar *tert*-butilo 3-(2-amino-5-metilpirimidina-4-ilo)benzoato (148 mg, 50%). ESI-MS m/z calc. 285,1, encontrado 286,5 ($M+1$)⁺. Tiempo de retención 1,33 minutos.

5 **Paso d: *tert*-Butilo 3-(2-(1-(2,2-difluorobenzo[*d*][1,3]dioxol-5-ilo)ciclopropanocarboxamido)-5-metilpirimidina-4-ilo)benzoato**

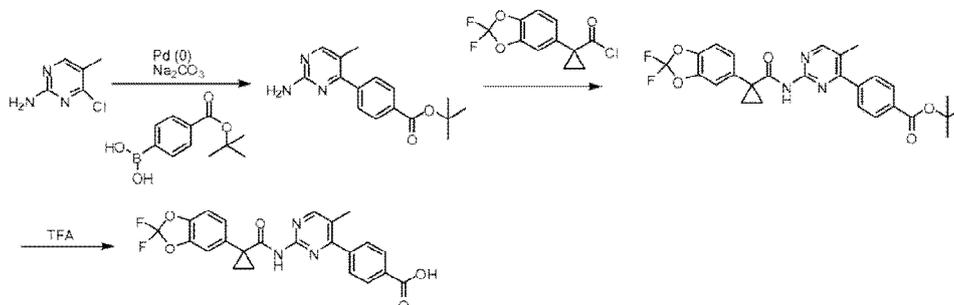
10 **[0213]** A 1-(2,2-difluorobenzo[*d*][1,3]dioxol-5-ilo)cloruro de ciclopropanocarbonilo (91 mg, 0,35 mmol) y *tert*-butilo 3-(2-amino-5-metilpirimidina-4-ilo)benzoato (50 mg, 0,175 mmol), piridina (2 ml) se añadió. La reacción se calentó a 90°C durante veinticuatro horas. La piridina se evaporó a presión reducida. La mezcla resultante se disolvió en acetato de etilo y se filtró. El filtrado se lavó con solución acuosa saturada de NaHCO_3 (x 3). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 anhidro y se evaporó bajo presión reducida. El producto en bruto se purificó por cromatografía de columna sobre gel de sílice para dar *tert*-Butilo 3-(2-(1-(2,2-difluorobenzo[*d*][1,3]dioxol-5-ilo)ciclopropanocarboxamido)-5-metilpirimidina-4-ilo)benzoato. ESI-MS m/z calc. 509,18, encontrado 510,5 ($M+1$)⁺. Tiempo de retención 2,22 minutos

20 **Paso e: Ácido 3-(2-(1-(2,2-difluorobenzo[*d*][1,3]dioxol-5-ilo)ciclopropanocarboxamido)-5-metilpirimidina-4-ilo)benzoico**

25 **[0214]** A *tert*-butilo 3-(2-(1-(2,2-difluorobenzo[*d*][1,3]dioxol-5-ilo)ciclopropanocarboxamido)-5-metilpirimidina-4-ilo)benzoato (48 mg, 0,094 mmol) diclorometano (1 ml) y TFA (726 μL) se añadieron y se agitaron a temperatura ambiente durante cuatro horas. El diclorometano y TFA se evaporaron bajo presión reducida. El producto bruto se disolvió en DMSO (1 ml), se filtró y se purificó por HPLC preparativa de fase inversa para producir ácido 3-(2-(1-(2,2-difluorobenzo[*d*][1,3]dioxol-5-ilo)ciclopropanocarboxamido)-5-metilpirimidina-4-ilo)benzoico. ESI-MS m/z calc. 453,11, encontrado 454,3 ($M+1$)⁺. Tiempo de retención 1,63 minutos.

30 **Preparación de ácido 4-(2-(1-(2,2-difluorobenzo[*d*][1,3]dioxol-5-ilo)ciclopropanocarboxamido)-5-metilpirimidina-4-ilo)benzoico**

35 **[0215]**



45 **Paso a: *tert*-Butilo 4-(2-amino-5-metilpirimidina-4-ilo)benzoato**

50 **[0216]** A 4-cloro-5-metilpirimidina-2-amina (150 mg, 1,04 mmol), paladio de tetraquitrifenilfosfina (0) (60 mg, 0,052 mmol) y 4-(*tert*-butoxicarbonilo)ácido fenilborónico (347 mg, 1,56 mmol), 1,2-DME (3 ml) y Na_2CO_3 se añadieron (1,04 ml, 2 M, 2,08 mmol) y se calentaron a 120°C en un reactor de microondas durante 30 minutos. La mezcla de reacción se filtró usando EtOAc y el filtrado se secó sobre Na_2SO_4 anhidro y se evaporó bajo presión reducida. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice para dar *tert*-butilo 4-(2-amino-5-metilpirimidina-4-ilo)benzoato (149 mg, 50%). ESI-MS m/z calc. 285,1, encontrado 286,3 ($M+1$)⁺. Tiempo de retención 1,36 minutos.

55 **Paso b: *tert*-Butilo 4-(2-(1-(2,2-difluorobenzo[*d*][1,3]dioxol-5-ilo)ciclopropanocarboxamido)-5-metilpirimidina-4-ilo)benzoato**

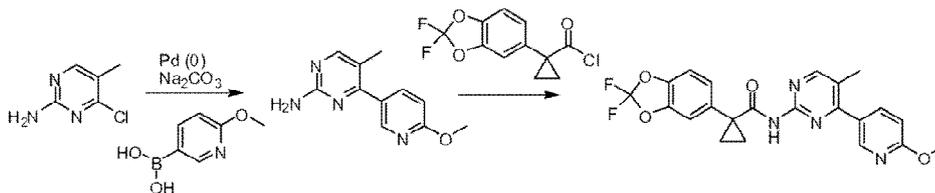
60 **[0217]** A 1-(2,2-difluorobenzo[*d*][1,3]dioxol-5-ilo)cloruro de ciclopropanocarbonilo (91 mg, 0,35 mmol) y *tert*-Butilo 4-(2-amino-5-metilpirimidina-4-ilo)benzoato (50 mg, 0,175 mmol), piridina (2 ml) se añadió. La reacción se calentó a 90°C durante veinticuatro horas. La piridina se evaporó a presión reducida. La mezcla resultante se disolvió en EtOAc y se filtró. El filtrado se lavó con solución acuosa saturada de NaHCO_3 (x 3). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 anhidro y se evaporó bajo presión reducida. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice para dar *tert*-Butilo 4-(2-(1-(2,2-difluorobenzo[*d*][1,3]dioxol-5-ilo)ciclopropanocarboxamido)-5-metilpirimidina-4-ilo)benzoato. ESI-MS m/z calc. 509,2, encontrado 510,5 ($M+1$)⁺. Tiempo de retención 2,18 minutos.

Paso c: Ácido 4-(2-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)ciclopropanocarboxamido)-5-metilpirimidina-4-ilo)benzoico

[0218] A *tert*-Butilo 4-(2-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)ciclopropanocarboxamido)-5-metilpirimidina-4-ilo)benzoato (68 mg, 0,13 mmol) DCM (1,42 ml) y TFA (1,00 ml) se añadieron y se agitaron a temperatura ambiente durante una hora. El DCM y TFA se evaporaron bajo presión reducida. El producto bruto se disolvió en DMSO (1 ml), se filtró y se purificó por HPLC preparativa de fase inversa para producir ácido 4-(2-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)ciclopropanocarboxamido)-5-metilpirimidina-4-ilo)benzoico. ESI-MS *m/z* calc. 453,1, encontrado 454,3 (M+1)⁺. Tiempo de retención 1,62 minutos.

Preparación de 1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(4-(6-metoxipiridina-3-ilo)-5-metilpirimidina-2-ilo)ciclopropanocarboxamida

[0219]

**Paso a: 4-(6-Metoxipiridina-3-ilo)-5-metilpirimidina-2-amina**

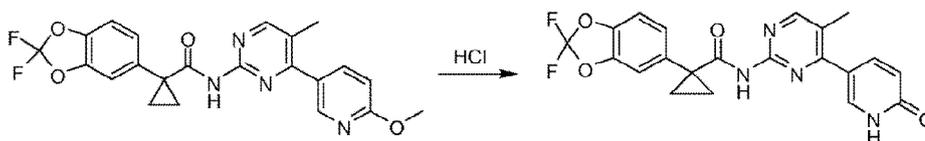
[0220] A 4-cloro-5-metilpirimidina-2-amina (250 mg, 1,74 mmol), paladio de tetraquitrifenilfosfina (0) (100 mg, 0,087 mmol) y ácido 6-metoxipiridina-3-ilborónico (398 mg, 2,60 mmol), 1,2-DME (6 ml) y Na₂CO₃ (1,74 ml, 2 M, 3,47 mmol) se añadieron y se calentaron a 120°C en un reactor de microondas durante 30 minutos. La mezcla de reacción se filtró usando acetónitrilo y el filtrado se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se evaporó bajo presión reducida. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice para dar 4-(6-metoxipiridina-3-ilo)-5-metilpirimidina-2-amina (160 mg, 43%). ESI-MS *m/z* calc. 216,10, encontrado 217,5 (M+1)⁺. Tiempo de retención 0,52 minutos.

Paso b: 1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(4-(6-metoxipiridina-3-ilo)-5-metilpirimidina-2-ilo)ciclopropanocarboxamida

[0221] A 1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)cloruro de ciclopropanocarbonilo (369 mg, 1,42 mmol) y 4-(6-metoxipiridina-3-ilo)-5-metilpirimidina-2-amina (153 mg, 0,71 mmol), piridina (4 ml) se añadió. La reacción se calentó a 90°C durante tres horas y media. La piridina se evaporó a presión reducida. La mezcla resultante se disolvió en acetato de etilo y se filtró. El filtrado se lavó con solución acuosa saturada de NaHCO₃ (x 3). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se evaporó bajo presión reducida. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice para dar 1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(4-(6-metoxipiridina-3-ilo)-5-metilpirimidina-2-ilo)ciclopropanocarboxamida. ESI-MS *m/z* calc. 440,13, encontrado 441,5 (M+1)⁺. Tiempo de retención 1,72 minutos.

Preparación de 1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(5-metilo-4-(6-oxo-1,6-dihidropiridina-3-ilo)pirimidina-2-ilo)ciclopropanocarboxamida

[0222]



[0223] A una solución de 1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(4-(6-metoxipiridina-3-ilo)-5-metilpirimidina-2-ilo)ciclopropanocarboxamida (126 mg, 0,286 mmol) en 1,4-dioxano (1,50 ml), 4 M de HCl acuoso (775 µL, 3,10 mmol) se añadió y se agitó a 90°C durante una hora. La reacción se enfrió a temperatura ambiente, se inactivó con Et₃N y se concentró. La mezcla resultante se disolvió en EtOAc y se filtró. El sólido se disolvió en agua y el producto se extrajo usando acetato de etilo (x 3). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se evaporaron a presión reducida. El producto bruto se disolvió en DMSO (1 ml), se filtró y se purificó por HPLC preparativa de fase inversa para producir 1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-ilo)-N-(5-metilo-4-(6-oxo-1,6-dihidropiridina-3-ilo)pirimidina-2-ilo)ciclopropanocarboxamida. ESI-MS *m/z* calc. 426,11, encontrado 427,3 (M+1)⁺. Tiempo de retención 1,34 minutos.

[0224] A continuación se presenta los datos de caracterización para los compuestos de la presente invención preparada de acuerdo con los ejemplos anteriores.

Tabla 2.

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60

Nº de Comp.	LC/MS M+1	LC/RT min.	RMN
1	408,2	3,82	
2	405,3	3,61	
3	403	2,38	
4	404,3	3,34	
5	380,3	3,54	
6	480,2	1,87	
7	393,1	6,25	
8	480,2	1,91	
9	453,3	1,41	H RMN (400 MHz, CD ₃ CN) 8,68 (d, J = 6,7 Hz, 1H), 8,52 (d, J = 6,7 Hz, 1H), 8,21 a 8,18 (m, 1H), 8,05 (d, J = 0,9 Hz, 1H), 7,85 (s, 1H), 7,68 - 7,67 (m, 2H), 7,46 - 7,44 (m, 2H), 7,29 (dd, J = 0,9, 7,8 Hz, 1H), 1,75 - 1,73 (m, 5H), 1,39-1,35 (m, 2H)
10	441,3	1,74	
11	454,3	1,62	
12	374,5	3,4	
13	408,5	3,49	
14	438,1	3,16	
15	308,3	2,87	
16	430,2	1,61	
17	416,2	1,56	
18	437,1	3,16	
19	373,1	2,44	
20	452,1	1,59	
21	270,1	2,47	
22	344,1	2,71	
23	376,1	2,61	
24	389,1	2,39	
25	298,3	2,14	
26	403,1	3,11	
27	374,1	3,32	
28	427,3	1,34	
29	403,2	1,54	
30	466,1	1,74	
31	325,3	2,14	
32	359,1	2,73	
33	404,5	3,37	
34	404,5	3,43	
35	314,1	2,31	
36	373,3	2,44	
37	407,5	2,67	
38	417,1	1,79	
39	416,2	1,51	
40	403,2	1,69	
41	428,1	2,91	
42	373,2	1,8	
43	404,5	2,29	
44	374,3	3,15	
45	454,3	1,63	
46	408,3	3,58	
47	403,3	2,5	

65 Los ensayos para la detección y medición de Propiedades de corrección $\Delta F508$ -CFTR de compuestos

[0225] Métodos ópticos de potencial de membrana para ensayar propiedades de modulación δ F508-CFTR de compuestos.

[0226] El ensayo utiliza colorantes de detección de tensión fluorescentes para medir los cambios en el potencial de membrana usando un lector de placas fluorescente (por ejemplo, FLIPR III, Molecular Devices, Inc.) como una lectura para el aumento en Δ F508-CFTR funcional en las células NIH 3T3. La fuerza impulsora para la respuesta es la creación de un gradiente de ión cloruro en conjunción con activación de canal por una sola etapa de adición de líquido después de que las células han sido previamente tratadas con los compuestos y posteriormente cargados con un colorante de detección de tensión.

Identificación de compuestos de corrección

[0227] Para identificar pequeñas moléculas que corrigen el defecto de tráfico asociado con Δ F508-CFTR; Se desarrolló un formato de ensayo HTS de adición única. Las placas de ensayo que contienen células se incuban durante ~ 2-4 horas en incubadora de cultivo de tejidos a 37°C, 5% de CO₂, 90% de humedad. Las células son entonces listas para la exposición de compuesto después de adherirse a la parte inferior de las placas de ensayo.

[0228] Las células se incubaron en medio libre de suero durante 16-24 horas en incubadora de cultivo de tejidos a 37°C, 5% de CO₂, 90% de humedad en presencia o ausencia (control negativo) de compuesto de ensayo. Las células se aclararon posteriormente 3X con solución de Krebs Ringers y se cargaron con un colorante de redistribución de detección de tensión. Para activar Δ F508-CFTR, 10 μ M de forskolina y el potenciador de CFTR, genisteína (20 μ M), se añadieron junto con medio exento de Cl⁻ a cada pocillo. La adición de medio exento de Cl⁻ promovió flujo de salida Cl⁻ en respuesta a activación Δ F508-CFTR y la despolarización de membrana resultante se controló ópticamente usando los tintes del sensor de voltaje.

Identificación de Compuestos Potenciadores

[0229] Para identificar potenciadores de Δ F508-CFTR, se desarrolló un formato de ensayo de doble adición de HTS. Este ensayo de HTS utiliza colorantes de detección de voltaje fluorescente a cambios de medida en el potencial de membrana en el FLIPR III como una medida para el aumento en gating (conductancia) de Δ F508 CFTR en las células NIH 3T3 Δ F508 CFTR de temperatura correcta. La fuerza impulsora para la respuesta es un gradiente iónico Cl⁻ en combinación con el canal de activación con forskolina en un paso de sola adición de líquidos utilizando un lector de placas fluorescente como FLIPR III después de que las células han sido previamente tratadas con compuestos potenciadores (o vehículo de control DMSO) y posteriormente cargadas con un colorante de redistribución.

Soluciones:

[0230] Solución de baño #1: (en mM) NaCl 160, KCl 4,5, CaCl₂ 2, MgCl₂ 1, HEPES 10, pH 7,4 con NaOH.

[0231] Solución de baño libre de cloruro: sales de cloruro en solución del baño #1 están sustituidas con sales de gluconato.

Cultivo de células

[0232] Fibroblastos de ratón NIH3T3 que expresan establemente Δ F508-CFTR se utilizan para las mediciones ópticas del potencial de membrana. Las células se mantuvieron a 37°C en 5% de CO₂ y 90% de humedad en medio de Eagle modificado por Dulbecco complementado con 2 mM de glutamina, suero bovino fetal al 10%, 1 X NEAA, β -Me, 1 X pen/strep, y 25 mM HEPES en frascos de cultivo de 175 cm². Para todos los ensayos ópticos, las células se sembraron a ~ 20.000/pocillo en placas de matrigel recubierto de 384 pocillos y se cultivaron durante 2 horas a 37°C antes de cultivarse a 27°C durante 24 h para el ensayo de potenciador. Para los ensayos de corrección, las células se cultivan a 27°C o 37°C con y sin compuestos durante 16 - 24 horas.

[0233] Los ensayos electrofisiológicos para ensayar propiedades de modulación δ F508-CFTR de compuestos.

1. Ensayo de cámara Ussing

[0234] Experimentos en cámara de Ussing se realizaron en las células epiteliales de las vías respiratorias polarizadas que expresan Δ F508-CFTR para caracterizar adicionalmente los moduladores Δ F508-CFTR identificados en los ensayos ópticos. Epitelios de las vías respiratorias no CF y CF fueron aislados de tejido bronquial, cultivados como se ha descrito previamente (Galletta, L.J.V., Lantero, S., Gazzolo, A., Sacco, O., Romano, L., Rossi, G.A., y Zegarra-Moran, O. (1998) In Vitro Cell. Dev. Biol. 34, 478-481), y se sembraron sobre filtros de Costar® Snapwell™ que se recubrieron previamente con medio acondicionado NIH3T3. Después de cuatro días se retiró el medio apical y las células se cultivaron en una interfase aire-líquido para >14 días antes de su uso. Esto resultó en una monocapa de células columnares completamente diferenciadas que fueron ciliadas, rasgos que son característicos de los epitelios de las vías respiratorias. HBE no CF se aislaron de los no fumadores que no

tenían ninguna enfermedad pulmonar conocida. CF-HBE se aislaron de pacientes homocigotos para $\Delta F508$ -CFTR.

[0235] HBE cultivados en insertos de Costar® Snapwell™ de cultivo de células se montaron en una cámara de Ussing (Physiologic Instruments, Inc., San Diego, CA), y la resistencia transepitelial y corriente de corto circuito en presencia de un gradiente Cl^- basolateral a apical (I_{SC}) se midieron usando un sistema de cierre de tensión (Departamento de Bioingeniería, Universidad de Iowa, IA). Brevemente, HBE se examinaron bajo condiciones de grabación de fijación de voltaje ($V_{\text{retención}} = 0 \text{ mV}$) a 37°C . La solución basolateral contenía (en mM) 145 NaCl, 0,83 K_2HPO_4 , 3,3 KH_2PO_4 , 1,2 MgCl_2 , 1,2 CaCl_2 , 10 glucosa, 10 HEPES (pH ajustado a 7,35 con NaOH) y la solución apical contenía (en mM) 145 NaGluconato, 1,2 MgCl_2 , 1,2 CaCl_2 , 10 glucosa, 10 HEPES (pH ajustado a 7,35 con NaOH).

Identificación de compuestos de corrección

[0236] El protocolo típico utilizaba un gradiente de concentración Cl^- de membrana basolateral a apical. Para configurar este gradiente, se usó timbre normal sobre la membrana basolateral, mientras que el NaCl apical se sustituyó por gluconato sódico equimolar (valorado a pH 7,4 con NaOH) para dar un gran gradiente de concentración Cl^- a través del epitelio. Todos los experimentos se realizaron con monocapas intactas. Para activar completamente $\Delta F508$ -CFTR, forskolina (10 μM), inhibidor de PDE, IBMX (100 μM) y potenciador de CFTR, genisteína (50 μM) se añadieron a la parte apical.

[0237] Como se ha observado en otros tipos de células, la incubación a bajas temperaturas de células FRT y células epiteliales bronquiales humanas aisladas de pacientes enfermos con FQ (CF-HBe) que expresan $\Delta F508$ -CFTR aumenta la densidad funcional de CFTR en la membrana plasmática. Para determinar la actividad de compuestos de corrección, las células se incubaron con compuesto de ensayo durante 24-48 horas a 37°C y posteriormente se lavaron 3X antes de la grabación. El I_{SC} mediada por AMPc y genisteína en las células tratadas con el compuesto se normalizó a controles a 37°C y se expresó como actividad de porcentaje de la actividad de CFTR en peso-HBE. La preincubación de las células con el compuesto de corrección aumentó significativamente I_{SC} mediada por AMPc y genisteína en comparación con los controles a 37°C .

Identificación de Compuestos Potenciadores

[0238] El protocolo típico utilizaba un gradiente de concentración Cl^- de membrana basolateral a apical. Para configurar este gradiente, timbres normal se utilizan en la membrana basolateral, mientras que el NaCl apical se sustituyó por gluconato sódico equimolar (valorado a pH 7,4 con NaOH) para dar un gran gradiente de concentración Cl^- a través del epitelio. Forskolina (10 μM) y todos los compuestos de ensayo se añaden a la parte apical de los insertos de cultivo celular. La eficacia de los potenciadores $\Delta F508$ -CFTR putativo se comparó con la del potenciador conocido, genisteína.

2. Grabaciones de pinza de parche

[0239] Corriente Cl^- total en células $\Delta F508$ -NIH3T3 se controló usando la configuración de grabación de parche perforado como se ha descrito previamente (Rae, J., Cooper, K., Gates, P., y Watsky, M. (1991) J. Neurosci. Methods 37, 15-26). Grabaciones de pinza de voltaje se realizaron a 22°C usando un amplificador de pinza de parche Axopatch 200B (Axon Instruments Inc., Foster City, CA). La solución de la pipeta contenía (en mM) 150 *N*-metilo-D-glucamina (NMDG)-Cl, 2 MgCl_2 , 2 CaCl_2 , 10 EGTA, 10 HEPES, y 240 $\mu\text{g/ml}$ de anfotericina-B (pH ajustado a 7,35 con HCl). El medio extracelular contenía (en mM) 150 NMDG-Cl, 2 MgCl_2 , 2 CaCl_2 , 10 HEPES (pH ajustado a 7,35 con HCl). La generación de pulsos, la adquisición de datos, y el análisis se realizaron usando un PC equipado con interfaz de Digidata 1320 A/D junto con Clampex 8 (Axon Instruments Inc.). Para activar $\Delta F508$ -CFTR, 10 μM de forskolina y 20 μM genisteína se añadieron al baño y la relación de corriente-voltaje se controló cada 30 seg.

Identificación de compuestos de corrección

[0240] Para determinar la actividad de los compuestos de corrección para aumentar la densidad de funcional $\Delta F508$ -CFTR en la membrana plasmática, hemos utilizado las técnicas de grabación de parche perforado descritas anteriormente para medir la densidad de corriente después de un tratamiento de 24 horas con compuestos de corrección. Para activar completamente $\Delta F508$ -CFTR, 10 μM de forskolina y 20 μM genisteína se añadieron a las células. Bajo nuestras condiciones de grabación, la densidad de corriente después de la incubación de 24 horas a 27°C fue mayor que la observada después de la incubación de 24 horas a 37°C . Estos resultados son consistentes con los efectos conocidos de incubación a baja temperatura sobre la densidad de $\Delta F508$ -CFTR en la membrana plasmática. Para determinar los efectos de los compuestos de corrección en la densidad de corriente CFTR, las células se incubaron con 10 μM del compuesto de ensayo durante 24 horas a 37°C y la densidad de corriente se comparó con los controles 27°C y 37°C (% actividad). Antes de la grabación, las células se lavaron 3X con medio de registro extracelular para retirar cualquier compuesto de ensayo restante. La preincubación con 10 μM de los compuestos de corrección aumentó significativamente el AMPc y la genisteína dependiente actual en comparación con los controles 37°C .

Identificación de Compuestos Potenciadores

5 **[0241]** La capacidad de potenciadores δ F508-CFTR para aumentar la corriente Cl^- macroscópica Δ F508-CFTR ($I_{\Delta F508}$) en células NIH3T3 que expresan establemente Δ F508-CFTR también se investigó utilizando técnicas de grabación de parche perforado. Los potenciadores identificados a partir de los ensayos ópticos evocaron un aumento dependiente de la dosis en $I_{\Delta F508}$ con potencia y eficacia similares observadas en los ensayos ópticos. En todas las células examinadas, el potencial inverso antes y durante la aplicación potenciadora fue de alrededor de -30 mV, que es el E_{Cl} calculado (-28 mV).

10 Cultivo de células

15 **[0242]** Fibroblastos de ratón NIH3T3 que expresan establemente Δ F508-CFTR se utilizan para las grabaciones de célula entera. Las células se mantuvieron a 37°C en 5% de CO_2 y 90% de humedad en medio de Eagle modificado por Dulbecco complementado con 2mM de glutamina, suero bovino fetal al 10%, 1 X NEAA, β -Me, 1 X pen/strep, y 25 mM de HEPES en frascos de cultivo de 175 cm^2 . Para grabaciones de célula entera, 2.500 - 5.000 células fueron sembradas en cubreobjetos de vidrio con poli-L-lisina y se cultivaron durante 24 - 48 horas a 27°C antes de su uso para ensayar la actividad de potenciadores; y se incubaron con o sin el compuesto de corrección a 37°C para medir la actividad de los correctores.

20 3. Grabaciones de canales únicos

25 **[0243]** La actividad de gating de peso-CFTR y la temperatura correcta Δ F508-CFTR expresada en células NIH3T3 se observó usando grabaciones de parches de membrana extirpados de dentro a fuera, como se describe previamente (Dalemans, W., Barbry, P., Champigny, G., Jallat, S., Dott, K., Dreyer, D., Crystal, RG, Pavirani, A., Lecocq, JP, Lazdunski, M. (1991) Nature 354, 526 - 528) utilizando un amplificador de pinza de parche Axopatch 200B (Axon Instruments Inc.). La pipeta contenía (en mM): 150 NMDG, 150 de ácido aspártico, 5 CaCl_2 , 2 MgCl_2 , y 10 HEPES (pH ajustado a 7,35 con base Tris). El baño contenía (en mM): 150 NMDG-Cl, 2 MgCl_2 , 5 EGTA, 10 TES, y 14 de base Tris (pH ajustado a 7,35 con HCl). Después de la escisión, tanto en peso como Δ F508-CFTR se activaron mediante la adición de 1 mM de Mg-ATP, 75 nM de la subunidad catalítica de AMPc dependiente de la proteína quinasa (PKA; Promega Corp. Madison, WI), y 10 mM de NaF para inhibir fosfatasas de proteínas, lo que impidió el resumen actual. El potencial de la pipeta se mantuvo a 80 mV. La actividad del canal se analizó a partir de parches de membrana que contienen ≤ 2 canales activos. El número máximo de aberturas simultáneas determinó el número de canales activos durante el transcurso de un experimento. Para determinar la amplitud de corriente de un solo canal, los datos registrados de 120 seg de la actividad de Δ F508-CFTR se filtró "fuera de línea" a 100 Hz y después se utilizó para construir histogramas de amplitud de puntos que fueron equipados con funciones multigaussianas utilizando software de análisis de Bio-Patch (Bio-Logic Comp. Francia). La corriente microscópica total y la probabilidad abierta (P_o) se determinaron a partir de 120 segundos de la actividad del canal. El P_o se determinó utilizando el software Bio-Patch o partir de la relación $P_o = I/i(N)$, donde I = corriente media, i = amplitud de corriente de un solo canal, y N = número de canales activos en el parche.

40 Cultivo de células

45 **[0244]** Fibroblastos de ratón NIH3T3 de manera estable expresan Δ F508-CFTR se utilizan para grabaciones de pinza de parche de membrana extirpada. Las células se mantuvieron a 37°C en 5% de CO_2 y 90% de humedad en medio de Eagle modificado por Dulbecco complementado con 2mM de glutamina, suero bovino fetal al 10%, 1 X NEAA, β -Me, 1 X pen/strep, y 25 mM de HEPES en frascos de cultivo de 175 cm^2 . Para las grabaciones de canales individuales, 2.500 - 5.000 células fueron sembradas en cubreobjetos de vidrio con poli-L-lisina y se cultivaron durante 24 - 48 horas a 27°C antes de su uso.

50 **[0245]** Se encontró que los compuestos de la Tabla 1 exhiben actividad de corrección como se mide en el ensayo descrito anteriormente.

55 **[0246]** Los compuestos de la invención son útiles como moduladores de transportistas de casete de unión de ATP. Utilizando los procedimientos descritos anteriormente, las actividades, es decir, CE50, de compuestos de la presente invención se han medido y se muestran en la Tabla 3.

60

65

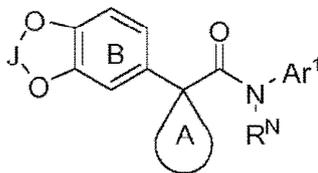
Tabla 3.

Ubicaciones CI50/CE50: +++ <= 2,0 <++ <= 5,0 <+		
Ubicaciones Act. Porcentual: + <= 25,0 <++ <= 100,0 <+++		
Nº de Comp.	CE50 ubicado	Eficacia max. ubicada
1	+	+++
2	+	+++
3	++	+++
4	+	+++
5	+	++
6	+	++
7	++	+++
8	+++	+++
9	++	++
10	++	++
11	++	++
12	+	+++
13	++	+++
14	+++	+++
15	+	++
16	+++	++
17	+++	++
18	+	+++
19	+	+++
20	++	++
21	+	++
22	+	+++
23	+	++
24	+	+++
25	+	++
26	+	++
27	+	+++
28	++	++
29	+++	++
30	++	+++
31	++	++
32	+	+++
33	++	+++
34	+	++
35	+	++
36	+	+++
37	+++	+++
38	+	++
39	++	++
40	++	+++
41	+	++
42	++	+++
43	++	+++
44	++	++
45	++	++
46	++	++
47	++	+++

Reivindicaciones

1. Un compuesto de fórmula I:

5



10

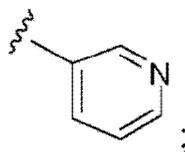
I

15

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

Ar¹ es

20



25

Ar¹ está opcionalmente sustituido con apariciones w de -W-R^W; donde

30

W es independientemente una cadena de alquilideno (C1-C6) opcionalmente sustituida en la que hasta dos unidades de metileno de W están sustituidas independientemente con -CO-, -O-, -S-, -SO₂-, o -NR¹-;

R¹ es independientemente H, alquilo, arilo, heteroarilo, aralquilo, cicloalquilo, o heterocicloalquilo; y

35

R^W es independientemente H, halo, CN, NO₂, NH₂, CF₃, OCF₃, OH, alcoxi, o un grupo alifático opcionalmente sustituido, cicloalifático, heterocíclico, arilo, o heteroarilo, en el que, cuando está sustituido, R^W está sustituido con hasta dos R₂;

R₂ es halo, CN, NO₂, CF₃, OCF₃, OR, -(C1-C6)alquilideno-OH, -(C1-C6)alquilideno-N(R)₂, OC(O)R, OC(O)N(R)₂, SR, S(O)R, SO₂R, SO₂N(R)₂, SO₃R, C(O)R, CO₂R, C(O)N(R)₂, N(R)₂, NRC(O)R, NRCO₂R, NRC(O)N(R)₂, NRSO₂R, B(OR)₂, o NRSO₂N(R)₂;

40

R es independientemente H, alquilo, cicloalquilo, heterocíclico, arilo, o heteroarilo;

R^N es H, alquilo, arilo, heteroarilo, aralquilo, cicloalquilo, o heterocicloalquilo;

A es un anillo monocíclico de 3-7 miembros opcionalmente sustituido;

45

B está opcionalmente condensado a un anillo de 5-7 miembros seleccionado del grupo que consiste en cicloalifático, arilo, heterocíclico y heteroarilo;

J se selecciona del grupo que consiste en CH₂, CF₂, C(CH₃)₂, C(O),

50



55



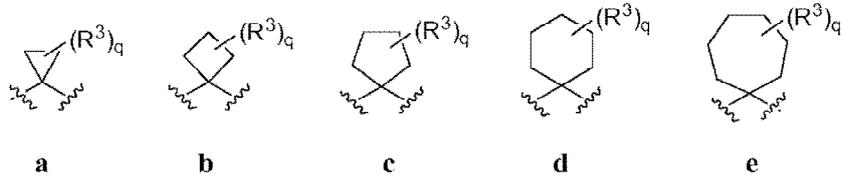
60

C(fenilo)₂, B(OH) y CH(OEt); y

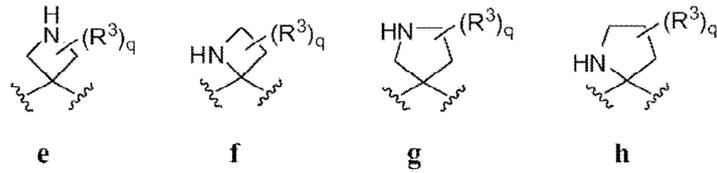
w es independientemente un número entero de 0 a 5 inclusive.

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

5

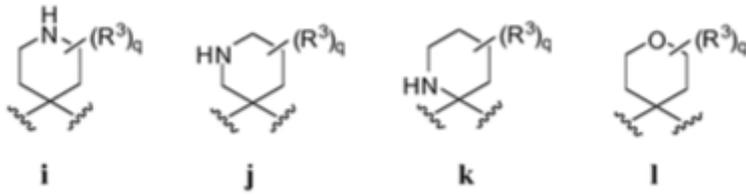


10



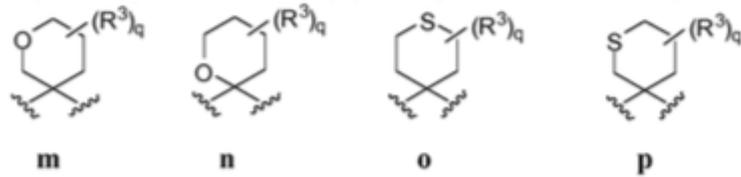
15

20



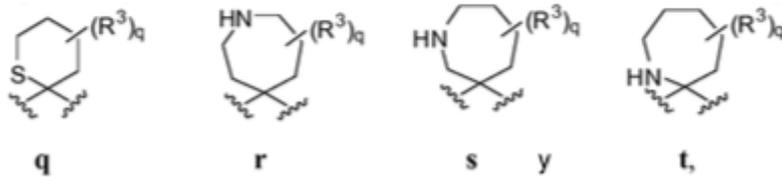
25

30



35

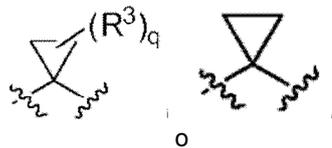
40



45 donde

R^3 es alquilo, alcarilo, arilo, o heteroarilo; y q es un número entero de 0 a 4 inclusive, preferiblemente en donde A es

50



55

3. El compuesto de la reivindicación 1, en el que R^N es H, arilo, o heteroarilo.

60 4. El compuesto de la reivindicación 1, en el que w es 0, o en el que w es 1, o en el que w es 2.

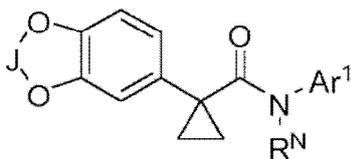
65 5. El compuesto de la reivindicación 1, en el que W es una cadena de alquilideno (C1-C6) opcionalmente sustituida, o en el que W es $-CH_2-$, o

en el que W es -NH-, o
 en el que W es -O-, o
 en el que W es -SO₂-.

- 5 **6.** El compuesto de la reivindicación 1, en el que R^W es H, o
 en el que R^W es OH, o
 en el que R^W es arilo, o
 en el que R^W es fenilo, o
 en el que R^W es heteroarilo, o
 10 en el que R^W es piridilo, o
 en el que R^W es alcoxi, o
 en el que R^W es metoxi, o
 en el que R^W es trifluorometoxi, o
 15 en el que R^W es cicloalquilo, o
 en el que R^W es ciclohexilo, o
 en el que R^W es heterocicloalquilo, o
 en el que R^W es un heterocicloalquilo insaturado, o
 en el que R^W es una piridina, o
 20 en el que R^W es -(C1-C6)alquilideno-N(R)₂, o
 en el que R^W es -(C1-C6)alquilideno-OH, o
 en el que R^W es -CH₂OH.

7. El compuesto de la reivindicación 1, que tiene fórmula **Ia**:

25



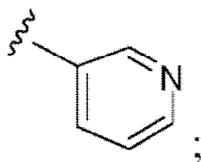
30

Ia

35 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

J es CH₂ o CF₂;
 RN es H, alquilo, arilo o heteroarilo;
 Ar¹ es

40



45

Ar¹ está opcionalmente sustituido con ocurrencias w de -W-R^W; donde

50

W es independientemente una cadena de alquilideno (C1-C6) opcionalmente sustituida en la que hasta dos unidades de metileno de W se reemplazan independientemente por -O-, -SO₂- o -NR¹-;
 R¹ es independientemente H, alquilo o arilo; y R^W es independientemente H, halo, CN, CF₃, OH, alcoxi, o un alifático, cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo opcionalmente sustituido, donde, cuando está sustituido, R^W se sustituye con hasta dos R²;

55

R² es halo, CF₃, OR, -(C1-C6)alquilideno-OH, SO₂N(R)₂, CO₂R, C(O)N(R)₂, B(OR)₂ o N(R)₂;
 R es independientemente H, alquilo, cicloalquilo, heterociclo, arilo o heteroarilo; y
 w es un número entero de 0 a 5 inclusive.

60

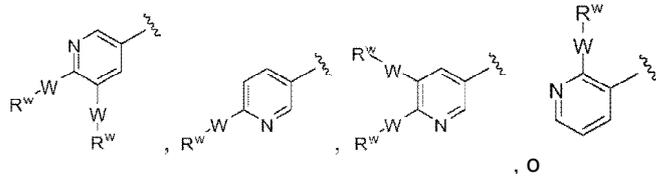
8. El compuesto de la reivindicación 1 o la reivindicación 7, en el que J es CH₂ o en el que J es CF₂.

9. El compuesto de la reivindicación 1 o la reivindicación 7, en el que RN es H o heteroarilo.

65

10. El compuesto de la reivindicación 7, en el que Ar¹ se selecciona de los siguientes:

5

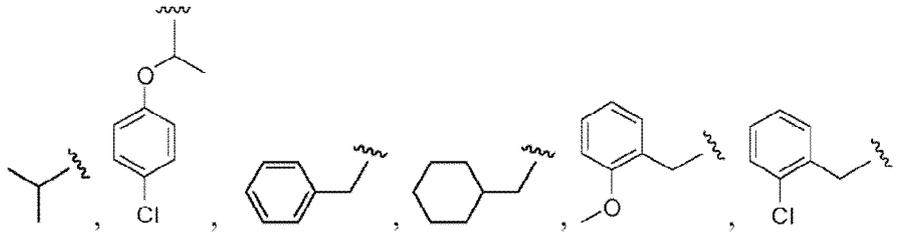


10

11. El compuesto de la reivindicación 1 o la reivindicación 7, en el que Ar^1 está sustituido con un acíclico $-W-R^w$.

12. El compuesto de la reivindicación 1 o la reivindicación 7, en el que Ar^1 está sustituido con al menos un $-W-R^w$ seleccionado de entre los siguientes:

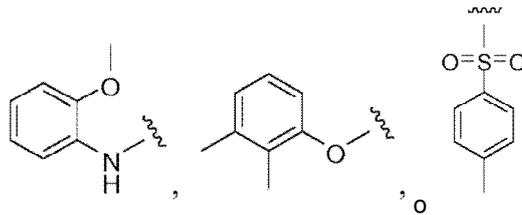
15



20

25

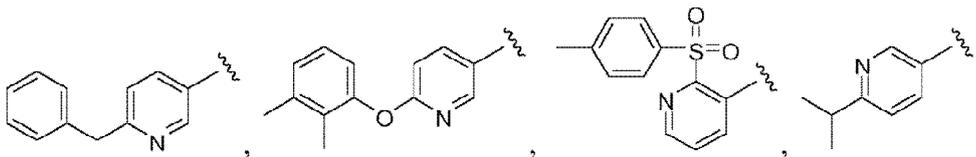
30



35

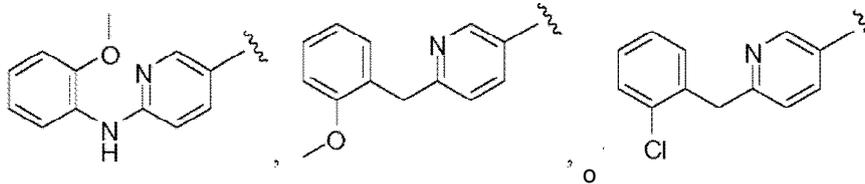
13. El compuesto de la reivindicación 7, en el que Ar^1 se selecciona de entre los siguientes:

40



45

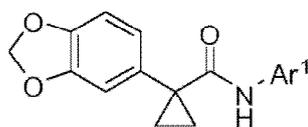
50



55

14. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, que tiene la fórmula Ib:

60

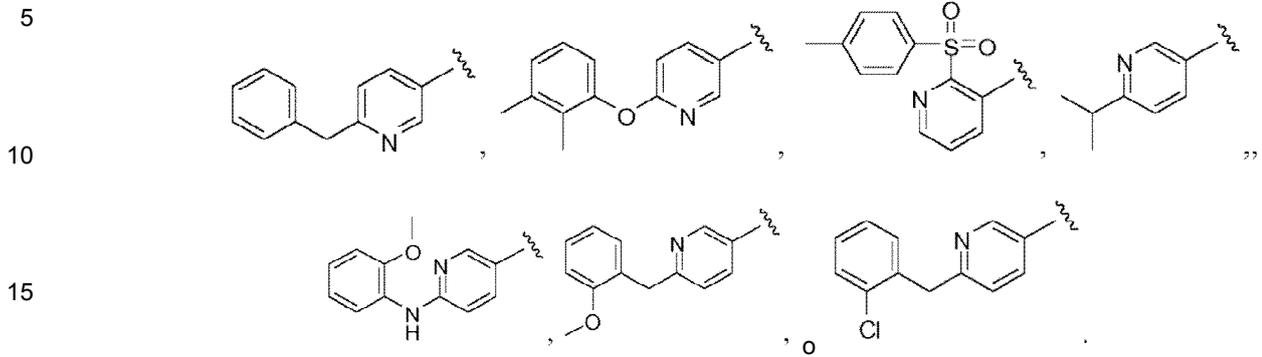


Ib

65

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

Ar¹ se selecciona de los siguientes:



15. Un compuesto seleccionado de:

20

25

30

35

40

45

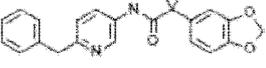
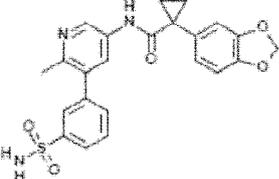
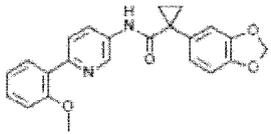
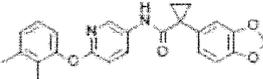
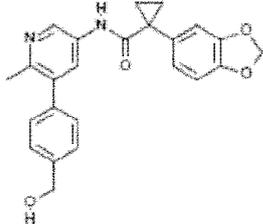
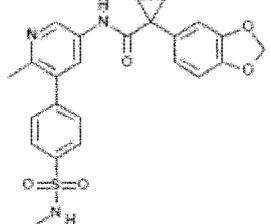
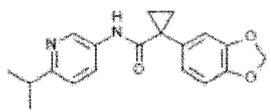
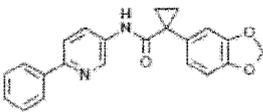
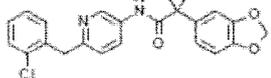
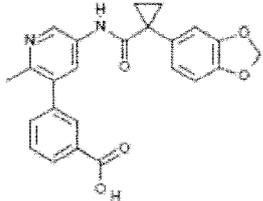
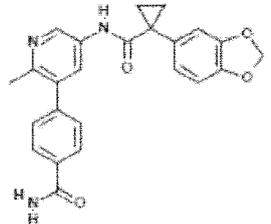
50

55

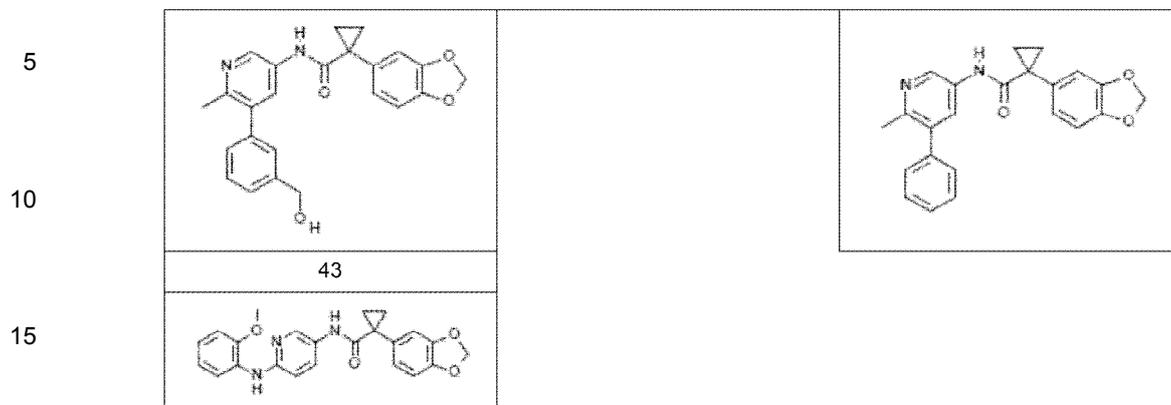
60

65

		3
		6
7	8	
		15
16	17	18

<p>19</p> 	<p>20</p> 	
		<p>24</p> 
	<p>26</p> 	
	<p>29</p> 	<p>30</p> 
<p>31</p> 	<p>32</p> 	
<p>37</p> 	<p>38</p> 	<p>39</p> 
<p>40</p>		<p>42</p>

(continuación)



20 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

16. Una composición farmacéutica que comprende

- 25 (i) un compuesto de la reivindicación 1 o la reivindicación 15; y
 (ii) un transportador farmacéuticamente aceptable, preferiblemente

que comprende adicionalmente un agente adicional seleccionado del grupo que consiste en un agente mucolítico, broncodilatador, un agente antibiótico, antiinfeccioso, un agente antiinflamatorio, corrector de CFTR y un agente nutricional.

30 17. Un método *ex vivo* de modulación de transportadores ABC en una membrana de una célula, que comprende la etapa de poner en contacto dicha célula con un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 15, preferentemente

35 en el que el transportador ABC es CFTR.

18. Un compuesto según la reivindicación 1 o la reivindicación 15 para uso en un método para tratar una afección, enfermedad o trastorno en un paciente implicado por la actividad transportadora ABC, en el que el método comprende la etapa de administrar a dicho paciente el compuesto según la reivindicación 1 o la reivindicación 15.

40 19. El compuesto para su uso según la reivindicación 18, en el que el transportador ABC es CFTR.

20. El compuesto para su uso según la reivindicación 18, en el que dicha afección, enfermedad o trastorno se seleccionan de fibrosis quística, enfisema hereditario, hemocromatosis hereditaria, deficiencias de coagulación-fibrinólisis, tales como deficiencia de proteína C, angioedema hereditario de tipo 1, lípido. Deficiencias de procesamiento, como hipercolesterolemia familiar, quilomicronemia tipo 1, abetalipoproteinemia, enfermedades de almacenamiento lisosomal, como enfermedad de células I/pseudo-Hurler, mucopolisacaridosis, Sandhof/Tay-Sachs, Crigler-Najjar tipo II, poliendocrinopatía/hiperinsulinemia, diabetes melitus, enanismo lanero, deficiencia de mieloperoxidasa, hipoparatiroidismo primario, melanoma, glicanosis CDG tipo 1, enfisema hereditario, hipertiroidismo congénito, osteogénesis imperfecta, hipofibrinogenemia hereditaria, deficiencia de ACT, diabetes insípida (di), di neurofisaria, DI neprogénica, Síndrome del Charcot-Marie Tooth, enfermedad de Perlizaeus-Merzbacher, enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica, plasma supranuclear progresivo, enfermedad de Pick, varios trastornos neurológicos de la poliglutamina como Huntington, ataxia espinocerebular tipo I, atrofia muscular espinal y bulbar, palidoluisiana dentatorubal y distrofia miotónica, así como encefalopatías espongiiformes, como Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob hereditario, enfermedad de Fabry, síndrome de Straussler-Scheinker, EPOC, enfermedad del ojo seco y enfermedad de Sjögren.

21. Un kit para uso en la medición de la actividad de un transportador ABC o un fragmento del mismo en una muestra biológica *in vitro* o *in vivo*, que comprende:

- 60 (i) una primera composición que comprende un compuesto según la reivindicación 1 o la reivindicación 15; e
 (ii) instrucciones para:

- 65 a) poner en contacto la composición con la muestra biológica;
 b) medir la actividad de dicho transportador ABC o un fragmento del mismo.