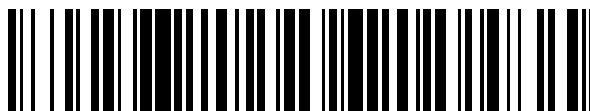


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 650 562**

51 Int. Cl.:

C07D 487/04 (2006.01)
A61K 31/506 (2006.01)
A61K 31/444 (2006.01)
A61K 31/4439 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 31/00 (2006.01)
A61P 3/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.05.2014 PCT/IB2014/061743**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **04.12.2014 WO14191911**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.05.2014 E 14741368 (6)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.08.2017 EP 3004112**

54 Título: **Derivados de pirazolo-pirrolidin-4-ona y su uso en el tratamiento de enfermedades**

30 Prioridad:

28.05.2013 EP 13169448

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
19.01.2018

73 Titular/es:

**NOVARTIS AG (100.0%)
Lichtstrasse 35
4056 Basel, CH**

72 Inventor/es:

**BLANK, JUTTA;
COTESTA, SIMONA;
GUAGNANO, VITO y
RUEEGER, HEINRICH**

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 650 562 T3

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

DESCRIPCIÓN

Derivados de pirazolo-pirrolidin-4-ona y su uso en el tratamiento de enfermedades

Campo de la invención

5 La invención proporciona derivados de pirazolo-pirrolidin-4-ona y los mismos para su uso como inhibidores de BET, para el tratamiento de afecciones o enfermedades tales como cáncer.

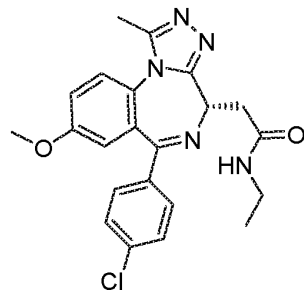
Antecedentes de la invención

10 Las proteínas BET son proteínas codificadas por cualquiera de los genes BRD2, BRD3, BRD4 o BRDT. Cada una de estas proteínas es portadora de dos bromodominios N-terminales. Los bromodominios comprenden un segmento conservado de aproximadamente 110 aminoácidos que se encuentra en al menos 42 proteínas diversas que interactúan específicamente con las lisinas acetiladas que se presentan, por ejemplo, en las colas de histona (Filippakopoulos y Knapp, FEBS Letters, 586 (2012), 2692-2704). Las histonas son una parte constituyente de la cromatina y sus modificaciones covalentes, incluyendo la transcripción genética reguladora de la acetilación de lisina. Por consiguiente, se cree que los bromodominios, regulan la transcripción mediante el reclutamiento de proteínas para los genes que están marcados con patrones específicos de acetilación de lisina.

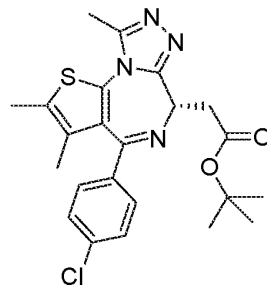
15 Varios informes publicados han vinculado a la familia de proteínas BET con enfermedades incluyendo cáncer, enfermedad metabólica e inflamación. Las fusiones oncogénicas de BRD4 o BRD3 y la proteína Nuclear en el gen de Testículos (NUT) causadas por las translocalizaciones cromosómicas son subyacentes a un cáncer agresivo denominado como carcinoma de la línea media de NUT (French y colaboradores, J Clin Oncol, 22 (2004), 4135-9; French y colaboradores, J Clin Pathol, 63 (2008), 492-6). Los bromodominios BRD3/4 están conservados en estas proteínas de fusión, y su inhibición ya sea mediante eliminación genética o con el inhibidor del bromodominio de BET selectivo JQ1 conduce a la muerte y/o a la diferenciación de estas células de cáncer tanto *in vitro* como en modelos tumorales animales (Filippakopoulos y colaboradores, Nature, 468 (2010), 1067-73). Se ha demostrado que el JQ1 y otros diferentes inhibidores selectivos de BET se enlazan a los bromodominios de BET y de esta manera impiden el enlace de acetil-lisina, lo cual impide que las proteínas BET interactúen con la cromatina y por lo mismo regulen la transcripción. BRD4 también se identificó a partir de un rastreo de ARNi como un objetivo en la leucemia mieloide aguda (AML) (Zuber y colaboradores, Nature, 478 (2011), 524-8). Este descubrimiento fue validado *in vitro* e *in vivo* utilizando el inhibidor JQ1 de BET y otro inhibidor selectivo de BET denominado como I-BET151 que químicamente no está relacionado con JQ1 (Dawson y colaboradores, Nature, 478 (2011), 529-33). Estos y otros estudios mostraron que los inhibidores de BET tienen una amplia actividad contra el cáncer en las leucemias agudas, en el mieloma múltiple, y en otras malignidades hematológicas. En varios modelos de cáncer, se ha observado una sub-regulación aguda del factor de transcripción oncogénico Myc sobre la inhibición de BET (Delmore y colaboradores, Cell, 146 (2011), 904-17; Mertz y colaboradores, Proc Natl Acad Sci EUA, 108 (2011), 16669-74). Los estudios más recientes sugieren que el potencial terapéutico de los inhibidores de BET se extiende hasta otras indicaciones de cáncer, por ejemplo, cáncer de pulmón y cerebro.

35 Se informó que otro inhibidor de BET denominado I-BET762 que está estrechamente relacionado con JQ1 en la estructura química y la manera en que se enlaza a los bromodominios de BET, modula la expresión de los genes inflamatorios clave, y de esta manera, protege contra el choque endotóxico y la sepsis inducida por bacterias en modelos de ratón (Nicodeme y colaboradores, Nature, 468 (2010), 1119-23). Este cuerpo de información se ha utilizado para soportar la evaluación clínica del inhibidor de BET RVX-208 en los estudios clínicos en los pacientes que padecen de aterosclerosis, enfermedad de arterias coronarias, dislipidemia, diabetes, y otras enfermedades cardiovasculares (McNeill, Curr Opin Investig Drugs, 3 (2010), 357-64 y www.clinicaltrials.gov). Se ha demostrado que tanto RVX-208 como I-BET762 sobre-regulan la Apolipoproteína A-I, la cual está críticamente involucrada en la reducción de los niveles de colesterol en el tejido. Finalmente, las proteínas BET se han vinculado con la propagación y la regulación de transcripción de varios virus y, por consiguiente, se cree que los inhibidores de BET podrían tener una actividad antiviral (Weidner-Glunde, Frontiers in Bioscience 15 (2010), 537-549).

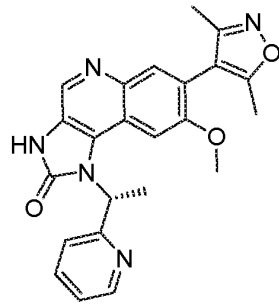
En resumen, los inhibidores de los bromodominios de BET tienen un potencial terapéutico en varias enfermedades humanas.



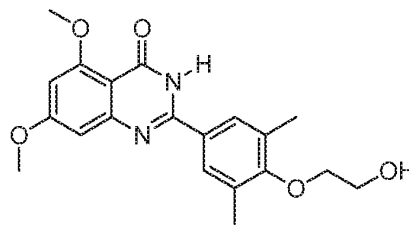
I-BET 762



JQ1



I-BET 151



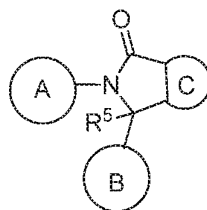
RVX-208

Sumario de la invención

5 Sigue existiendo una necesidad de nuevos tratamientos y terapias para el tratamiento de cáncer. La invención proporciona compuestos como inhibidores de BET, sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, composiciones farmacéuticas de los mismos y combinaciones de los mismos. La invención proporciona además métodos para tratar, prevenir o mitigar el cáncer, los cuales comprenden administrar a un sujeto que lo necesite, una cantidad eficaz de un inhibidor de BET.

10 Se describen en el presente documento diversas realizaciones de la invención. Los compuestos particularmente interesantes de la invención tienen una buena potencia en los ensayos biológicos descritos en el presente documento. En otro aspecto, deben tener un perfil de seguridad favorable. En otro aspecto, deben poseer propiedades farmacocinéticas favorables.

De acuerdo con un primer aspecto de la invención, Realización 1, se proporciona un compuesto de fórmula (I), o una sal del mismo,

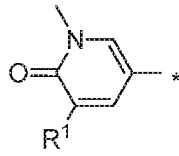


(I)

15

en el que:

A es:



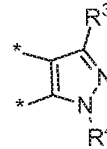
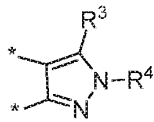
;

B es:



;

C se selecciona de:



5

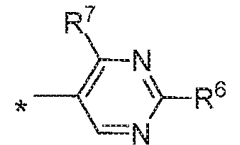
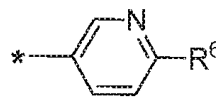
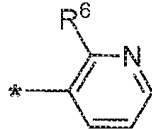
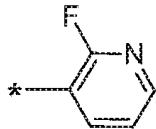
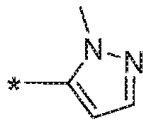
y

;

R¹ se selecciona de metilo y cloro;

R² se selecciona de cloro y fluoro;

R³ se selecciona de metilo y ciclopropilo; y R⁴ se selecciona de H; alquilo (C₁-C₄) opcionalmente sustituido con -OH u -O-alquilo (C₁-C₄); ciclopropilo;



10

;

;

;

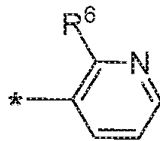
;

y



;

o
R³ es:



;

15

Y R⁴ se selecciona de H; alquilo (C₁-C₄) opcionalmente sustituido con -OH u -O-alquilo (C₁-C₄); y ciclopropilo;

R⁵ es H;

R⁶ es -O-alquilo (C₁-C₄);

R⁷ se selecciona de H y metoxi;

y * indica el punto de unión con el resto de la molécula.

En otra realización, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de acuerdo con la definición de la fórmula (I), o de una sal del mismo, o de las subfórmulas de la misma, y uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables.

- 5 En otra realización, la invención proporciona una combinación, en particular una combinación farmacéutica, que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de acuerdo con la definición de la fórmula (I), o de una sal del mismo, o de las subfórmulas de la misma, y uno o más agentes terapéuticamente activos.

Descripción detallada

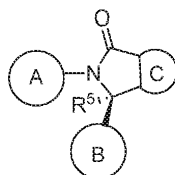
- 10 A continuación se describe un número de realizaciones (E) del primer aspecto de la invención, donde para mayor conveniencia, la Realización 1 es idéntica a las mismas.

A menos que se especifique de otra manera, la frase "compuestos de la presente invención" se refiere a los compuestos de fórmula (I) y de las subfórmulas de la misma, y a las sales de los mismos, así como a todos los estereoisómeros (incluyendo diaestereoisómeros y enantiómeros), rotámeros, tautómeros y compuestos marcados isotópicamente (incluyendo las sustituciones con deuterio), así como a los restos inherentemente formados.

- 15 Como se usa en el presente documento, el término "alquilo C₁-C₄" se refiere a un resto de hidrocarburo completamente saturado ramificado o no ramificado que tiene 1 a 4 átomos de carbono. Los ejemplos representativos de alquilo C₁-C₄ incluyen metilo, etilo, *n*-propilo, *iso*-propilo, *n*-butilo, *sec*-butilo, *iso*-butilo y *terc*-butilo.

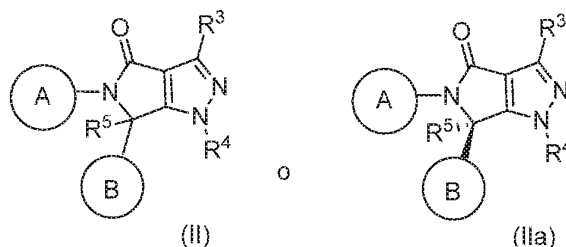
- 20 En el presente documento, se describen diversas realizaciones de la invención. Se reconocerá que las características especificadas en cada realización pueden combinarse con otras características especificadas para proporcionar realizaciones adicionales de la presente invención dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas. La invención, por consiguiente, proporciona un compuesto de fórmula (I) como se describe anteriormente en el presente documento como Realización 1.

- 25 Realización 2. Un compuesto de fórmula (I), o una sal del mismo, de acuerdo con la Realización 1, que es de fórmula (Ia):



(Ia).

- Realización 3. Un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, de acuerdo con la Realización 1 o 2, en el que el compuesto es de fórmula (II) o (IIa):



(II)

(IIa)

- 30 Realización 4. Un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, de acuerdo con la Realización 1 o 2, en el que el compuesto es de fórmula (III) o (IIIa):

[3,4-c]-pirazol-4(1H)-ona;

Ejemplo 5: 6-(4-clorofenil)-3-ciclopropil-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-(1-metil-1H-pirazol-5-il)-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(1H)-ona;

5 Ejemplo 6: 5-(5-cloro-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-6-(4-clorofenil)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(2H)-ona;

Ejemplo 7a: 5-(5-cloro-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-6-(4-clorofenil)-1-(2-metoxipiridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(1H)-ona;

Ejemplo 7b: 5-(5-cloro-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-6-(4-clorofenil)-2-(2-metoxipiridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(2H)-ona;

10 Ejemplo 8a: 5-(5-cloro-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-6-(4-clorofenil)-1-(2-metoxi-pirimidin-5-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(1H)-ona;

Ejemplo 8b: 5-(5-cloro-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-6-(4-clorofenil)-2-(2-metoxi-pirimidin-5-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(2H)-ona;

15 Ejemplo 9: 6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(2H)-ona;

Ejemplo 10: 6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1,3-dimetil-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(1H)-ona;

Ejemplo 11: 6-(4-clorofenil)-1-ciclopropil-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(1H)-ona;

20 Ejemplo 12: 6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-isopropil-3-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(1H)-ona;

Ejemplo 13: 6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-(4-metoxifenil)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(1H)-ona;

25 Ejemplo 14: 6-(4-clorofenil)-2-(2,4-dimetoxi-pirimidin-5-il)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(2H)-ona;

Ejemplo 15: 6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-3-(2-metoxipiridin-3-il)-1-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(1H)-ona;

Ejemplo 16: (R)-6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-3-(2-metoxipiridin-3-il)-1-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(1H)-ona;

30 Ejemplo 17a: 6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-(2-metoxipiridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(1H)-ona;

Ejemplo 17b: 6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-2-(2-metoxipiridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(2H)-ona;

35 Ejemplo 18a: 6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-(2-etoxi-piridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(1H)-ona;

Ejemplo 18b: 6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-2-(2-etoxi-piridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(2H)-ona;

Ejemplo 19: 6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-(2-fluoro-piridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(1H)-ona;

40 Ejemplo 20a: 6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-2-(6-metoxipiridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(2H)-ona;

Ejemplo 20b: 6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-(6-metoxipiridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(1H)-ona;

Ejemplo 21a: 6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-(2-metoxi-pirimidin-5-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(1H)-ona;

5 Ejemplo 21b: 6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-2-(2-metoxi-pirimidin-5-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(2H)-ona;

Ejemplo 22: (R)-6-(4-clorofenil)-3-ciclopropil-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-(1-metil-1H-pirazol-5-il)-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(1H)-ona;

10 Ejemplo 23: 6-(4-clorofenil)-3-ciclopropil-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(1H)-ona;

Ejemplo 24: (R)-6-(4-clorofenil)-3-ciclopropil-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(1H)-ona;

Ejemplo 25: (R)-6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-(2-metoxipiridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(1H)-ona;

15 Ejemplo 26: (R)-6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-2-(2-metoxipiridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(2H)-ona;

Ejemplo 27: (R)-6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(2H)-ona; y

20 Ejemplo 28: (R)-5-(5-cloro-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-6-(4-clorofenil)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(2H)-ona.

Realización 9. Un compuesto de la fórmula (I), o una sal del mismo, de acuerdo con la Realización 1, seleccionado de:

Ejemplo 2: (R)-6-(4-clorofenil)-3-ciclopropil-5-(3,8-dimetil-[1,2,4]-triazolo-[4,3-a]-piridin-6-il)-1-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(1H)-ona;

25 Ejemplo 11: 6-(4-clorofenil)-1-ciclopropil-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(1H)-ona;

Ejemplo 16: (R)-6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-3-(2-metoxipiridin-3-il)-1-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(1H)-ona;

30 Ejemplo 17b: 6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-2-(2-metoxipiridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(2H)-ona;

Ejemplo 20a: 6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-2-(6-metoxipiridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(2H)-ona;

Ejemplo 20b: 6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-(6-metoxipiridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(1H)-ona;

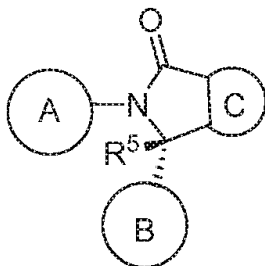
35 Ejemplo 21a: 6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-(2-metoxi-pirimidin-5-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(1H)-ona;

Ejemplo 24: (R)-6-(4-clorofenil)-3-ciclopropil-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(1H)-ona;

40 Ejemplo 25: (R)-6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-(2-metoxipiridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(1H)-ona; y

Ejemplo 26: (R)-6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-2-(2-metoxipiridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(2H)-ona.

La presente descripción incluye compuestos de una estereoquímica como se muestra en la fórmula (Ib):



(Ib).

5 Dependiendo de la elección de los materiales de partida y de los procedimientos, los compuestos pueden estar presentes en la forma de uno de los posibles isómeros o como mezclas de los mismos, por ejemplo, como los isómeros ópticos puros, o como mezclas de isómeros, tales como racematos y mezclas de diaestereoisómeros, dependiendo del número de átomos de carbono asimétricos. La presente invención pretende incluir todos los posibles isómeros, incluyendo las mezclas racémicas, las mezclas diaestereoméricas, y las formas ópticamente puras. Los isómeros (R) y (S) ópticamente activos pueden prepararse utilizando sintones quirales o reactivos quirales, o pueden resolverse empleando las técnicas convencionales. Si el compuesto contiene un doble enlace, el sustituyente puede estar en la configuración E o Z. Si el compuesto contiene un cicloalquilo disustituído, el sustituyente de cicloalquilo puede tener una configuración cis o trans. También se pretende incluir todas las formas tautoméricas.

15 Como se utilizan en el presente documento, los términos "sal" o "sales" se refieren a una sal de adición de ácido o de adición de base de un compuesto de la invención. Las "sales" incluyen en particular, las "sales farmacéuticamente aceptables". La frase "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a las sales que conservan la efectividad biológica y las propiedades de los compuestos de esta invención, y que típicamente no son biológicamente o de otra manera indeseables. En muchos casos, los compuestos de la presente invención son capaces de formar sales de ácido y/o de base en virtud de la presencia de los grupos amino y/o carboxilo, o grupos similares a los mismos.

20 Las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables pueden formarse con ácidos inorgánicos y ácidos orgánicos.

Los ácidos inorgánicos a partir de los cuales se pueden derivar las sales incluyen, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y similares.

25 Los ácidos orgánicos a partir de los cuales se pueden derivar las sales incluyen, por ejemplo, ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido oxálico, ácido maleico, ácido malónico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido mandélico, ácido metansulfónico, ácido etansulfónico, ácido toluensulfónico, ácido sulfosalicílico y similares.

30 En otro aspecto, la presente invención proporciona los compuestos de fórmula I en una forma de sal de acetato, ascorbato, adipato, aspartato, benzoato, besilato, bromuro/bromhidrato, bicarbonato/carbonato, bisulfato/sulfato, alcanforsulfonato, caprato, cloruro/clorhidrato, clorteofilonato, citrato, etandisulfonato, fumarato, gluceptato, gluconato, glucuronato, glutamato, glutarato, glicolato, hipurato, yodhidrato/yoduro, isetionato, lactato, lactobionato, laurilsulfato, malato, maleato, malonato, mandelato, mesilato, metilsulfato, mucato, naftoato, napsilato, nicotinato, nitrato, octadecanoato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato, fosfato/fosfato de hidrógeno/fosfato de dihidrógeno, poligalacturonato, propionato, sebacato, estearato, succinato, sulfosalicilato, sulfato, tartrato, tosilato, trifenato, trifluoroacetato o xinafoato.

35 Cualquier fórmula dada en el presente documento también pretende representar las formas no marcadas así como las formas isotópicamente marcadas de los compuestos. Los compuestos isotópicamente marcados tienen las estructuras ilustradas por las fórmulas dadas en el presente documento, excepto que uno o más átomos son reemplazados por un átomo que tenga una masa atómica o número de masa seleccionados. Los ejemplos de los isótopos que pueden incorporarse en los compuestos de la invención incluyen los isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, flúor y cloro, tales como ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}F , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{36}Cl , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I respectivamente. La invención incluye diferentes compuestos isotópicamente marcados, como se definen en el presente documento, por ejemplo, aquellos en los que están presentes isótopos radioactivos, tales como ^3H y ^{14}C , o aquellos en los que están presentes isótopos no radioactivos, tales como ^2H y ^{13}C . Dichos compuestos isotópicamente marcados son útiles en los estudios metabólicos (con ^{14}C), en los estudios de cinética de reacción (con, por ejemplo, ^2H o ^3H), en las técnicas de detección o de formación de imágenes, tales como tomografía por

emisión de positrones (PET) o tomografía computarizada con emisión de un solo fotón (SPECT), incluyendo los ensayos de distribución del fármaco o del sustrato en el tejido, o en el tratamiento radioactivo de los pacientes. En particular, un ^{18}F o un compuesto marcado puede ser particularmente deseable para los estudios de PET o SPECT. Los compuestos isotópicamente marcados de la fórmula (I) se pueden preparar en términos generales mediante las técnicas convencionales conocidas por los expertos en este campo o mediante procesos análogos a aquellos descritos en los ejemplos y en las preparaciones acompañantes utilizando un reactivo isotópicamente marcado apropiado en lugar del reactivo no marcado previamente empleado.

Además, la sustitución con isótopos más pesados, en particular deuterio (es decir, ^2H o D), puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas resultantes de la mayor estabilidad metabólica, por ejemplo, un aumento de la vida media *in vivo* o requerimientos de dosificación reducida o una mejora en el índice terapéutico. Se entiende que el deuterio en este contexto se considera como un sustituyente de un compuesto de la fórmula (I). La concentración de este isótopo más pesado, específicamente deuterio, se puede definir por el factor de enriquecimiento isotópico. El término "factor de enriquecimiento isotópico", como se utiliza en el presente documento, significa la proporción entre la abundancia isotópica y la abundancia natural de un isótopo especificado. Si un sustituyente en un compuesto de esta invención es denotado como deuterio, este compuesto tiene un factor de enriquecimiento isotópico para cada átomo de deuterio designado de al menos 3500 (52,5 % de incorporación de deuterio en cada átomo de deuterio designado), de al menos 4000 (60 % de incorporación de deuterio), de al menos 4500 (67,5 % de incorporación de deuterio), de al menos 5000 (75 % de incorporación de deuterio), de al menos 5500 (82,5 % de incorporación de deuterio), de al menos 6000 (90 % de incorporación de deuterio), de al menos 6333,3 (95 % de incorporación de deuterio), de al menos 6466,7 (97 % de incorporación de deuterio), de al menos 6600 (99 % de incorporación de deuterio), o de al menos 6633,3 (99,5 % de incorporación de deuterio).

Los solvatos farmacéuticamente aceptables de acuerdo con la invención incluyen aquellos en donde el disolvente de cristalización puede ser isotópicamente sustituido por ejemplo, D_2O , d_6 -acetona, d_6 -DMSO.

Los compuestos de la invención, es decir, los compuestos de fórmula (I) que contienen grupos capaces de actuar como donadores y/o aceptores para los enlaces de hidrógeno, pueden ser capaces de formar co-cristales con formadores de co-cristales adecuados. Estos co-cristales pueden prepararse a partir de los compuestos de fórmula (I) mediante los procedimientos de formación de co-cristales conocidos. Estos procedimientos incluyen moler, calentar, co-sublimar, co-fusionar, o poner en contacto en solución los compuestos de fórmula (I) con el formador de co-cristales bajo condiciones de cristalización, y aislar los co-cristales formados de esta manera. Los formadores de co-cristales adecuados incluyen aquellos descritos en el documento WO 2004/078163. Por consiguiente, la invención proporciona además co-cristales que comprenden un compuesto de fórmula (I).

Como se usa en el presente documento, la frase "vehículo farmacéuticamente aceptable" incluye cualquiera y todos los disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, tensioactivos, antioxidantes, conservantes (por ejemplo, agentes antibacterianos, agentes anti-fúngicos), agentes isotónicos, agentes retardantes de absorción, sales, conservantes, estabilizantes de fármacos, aglutinantes, excipientes, agentes de desintegración, lubricantes, agentes edulcorantes, agentes saborizantes, tintes, y similares, y combinaciones de los mismos, como serían conocidos por los expertos en este campo (véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18ª Edición, Mack Printing Company, 1990, páginas 1289-1329). Excepto hasta donde cualquier vehículo convencional sea incompatible con el ingrediente activo, se contempla su uso en las composiciones terapéuticas o farmacéuticas.

La frase "una cantidad terapéuticamente efectiva" de un compuesto de la presente invención se refiere a una cantidad del compuesto de la presente invención que provocará la respuesta biológica o médica de un sujeto, por ejemplo, la reducción o inhibición de la actividad de una enzima o de una proteína, o que mitigará los síntomas, aliviará las condiciones, hará más lento o retardará el progreso de la enfermedad, o prevendrá una enfermedad, etc. En una realización no limitante, el término "una cantidad terapéuticamente efectiva" se refiere a la cantidad del compuesto de la presente invención que, cuando se administra a un sujeto, es efectiva para: (1) al menos parcialmente aliviar, inhibir, prevenir y/o mitigar una condición, o un trastorno, o una enfermedad (i) mediada por proteínas BET, o (ii) asociada con la actividad de proteína BET, o (iii) caracterizada por una actividad (normal o anormal) de las proteínas BET; o (2) reducir o inhibir la actividad de las proteínas BET; o (3) reducir o inhibir la expresión de BET. En otra realización no limitante, el término "una cantidad terapéuticamente efectiva" se refiere a la cantidad del compuesto de la presente invención que, cuando se administra a una célula, o a un tejido, o a un material biológico no celular, o a un medio, es efectiva para al menos parcialmente reducir o inhibir la actividad de las proteínas BET; o al menos parcialmente reducir o inhibir la expresión de las proteínas BET.

Una "proteína BET" es una proteína codificada por cualquiera de los genes BRD2, BRD3, BRD4, o BRDT". A menos que se indique de otra manera "proteínas BET" o "proteína BET" se utilizan en el presente documento en las formas singular y plural indistintamente, y el uso de cualquiera de las mismas no es limitante. A menos que se indique de otra manera "proteínas BET" incluye todas, o cualquier combinación de, estas proteínas codificadas.

Como se usa en el presente documento, el término "sujeto" se refiere a un animal. Típicamente el animal es un mamífero. Un sujeto también se refiere a, por ejemplo, primates (por ejemplo, seres humanos, masculinos o femeninos), vacas, ovejas, cabras, caballos, perros, gatos, conejos, ratas, ratones, peces, aves, y similares. En

ciertas realizaciones, el sujeto es un primate. En todavía otras realizaciones, el sujeto es un ser humano.

Como se usa en el presente documento, el término "inhibir", "inhibición" o "inhibiendo" se refiere a la reducción o supresión de una afección, síntoma, o trastorno, o enfermedad dada, o a una disminución significativa en la actividad de la línea base de una actividad o proceso biológico.

- 5 Como se usa en el presente documento, el término "tratar", "tratando" o "tratamiento" de cualquier enfermedad o trastorno, se refiere, en una realización, a mitigar la enfermedad o el trastorno (es decir, hacer más lento o detener o reducir el desarrollo de la enfermedad o de al menos uno de los síntomas clínicos de la misma). En otra realización, "tratar", "tratando" o "tratamiento" se refiere a aliviar o mitigar al menos un parámetro físico, incluyendo aquellos que no puedan ser discernibles por el paciente. En todavía otra realización, "tratar", "tratando" o "tratamiento" se refiere a modular la enfermedad o el trastorno, ya sea físicamente (por ejemplo, la estabilización de un síntoma discernible), fisiológicamente (por ejemplo, la estabilización de un parámetro físico), o ambas. En todavía otra realización, "tratar", "tratando" o "tratamiento" se refiere a prevenir o retardar el establecimiento o desarrollo o progreso de la enfermedad o del trastorno.

- 15 Como se usa en el presente documento, un sujeto está "en necesidad de" un tratamiento si este sujeto se beneficiaría biológicamente, médicamente o en su calidad de vida a partir de dicho tratamiento.

Como se usa en el presente documento, el término "un", "uno", "el" y términos similares utilizados en el contexto de la presente invención (en especial en el contexto de las reivindicaciones) deben interpretarse para cubrir tanto el singular como el plural, a menos que se indique de otra manera en el presente documento o que sea claramente contradictorio por el contexto.

- 20 Todos los métodos descritos en el presente documento pueden llevarse a cabo en cualquier orden adecuado a menos que se indique de otra manera en el presente documento o que sea de otra manera claramente contradictorio por el contexto. El uso de cualquiera y todos los ejemplos, o del lenguaje de ejemplo (por ejemplo, "tal como") proporcionado en el presente documento, pretende meramente iluminar mejor la invención y no presenta una limitación sobre el alcance de la invención reclamada de otra manera.

- 25 Cualquier átomo asimétrico (por ejemplo, carbono, o similares) del compuesto o compuestos de la presente invención puede estar presente en una forma racémica o enantioméricamente enriquecida, por ejemplo, en la configuración (*R*), (*S*), o (*R,S*). En ciertas realizaciones, cada átomo asimétrico tiene al menos el 50 % de un exceso enantiomérico, al menos el 60 % de un exceso enantiomérico, al menos el 70 % de un exceso enantiomérico, al menos el 80 % de un exceso enantiomérico, al menos el 90 % de un exceso enantiomérico, al menos el 95 % de un exceso enantiomérico, o al menos el 99 % de un exceso enantiomérico en la configuración (*R*) o (*S*). Los sustituyentes en los átomos con dobles enlaces insaturados, si es posible, pueden estar presentes en la forma *cis* (*Z*) o *trans* (*E*).

- 35 En consecuencia, como se usa en el presente documento, un compuesto de la presente invención puede estar en forma de uno de los posibles isómeros, rotámeros, atropisómeros, tautómeros o mezclas de los mismos, por ejemplo, como isómeros geométricos (*cis* o *trans*) sustancialmente puros, diaestereómeros, isómeros ópticos (antípodos), racematos o mezclas de los mismos.

Cualquier mezcla resultante de isómeros puede separarse en base a las diferencias fisicoquímicas de los constituyentes, en los isómeros geométricos u ópticos puros o sustancialmente puros, diaestereómeros, racematos, por ejemplo, mediante cromatografía y/o cristalización fraccionaria.

- 40 Cualquier racemato resultante de los productos finales o intermedios puede resolverse en las antípodos ópticas mediante los métodos conocidos, por ejemplo, mediante la separación de las sales diaestereoméricas de los mismos, obtenidas con un ácido o una base ópticamente activa, y la liberación del compuesto ácido o básico ópticamente activo. En particular, por consiguiente, puede emplearse una fracción básica para resolver los compuestos de la presente invención en sus antípodos ópticos, por ejemplo, mediante la cristalización fraccionaria de una sal formada con un ácido ópticamente activo, por ejemplo, el ácido tartárico, ácido dibenzoil-tartárico, ácido diacetil-tartárico, ácido di-*O*,*O'*-*p*-toluolil-tartárico, ácido mandélico, ácido málico o ácido alcanfor-10-sulfónico. Los productos racémicos también se pueden resolver mediante cromatografía quiral, por ejemplo, cromatografía de líquidos a alta presión (HPLC), utilizando un adsorbente quiral.

- 50 Adicionalmente, los compuestos de la presente invención, incluyendo sus sales, también pueden obtenerse en forma de sus hidratos, o pueden incluir otros disolventes utilizados para su cristalización. Los compuestos de la presente invención pueden formar, inherentemente o por diseño, solvatos, con disolventes farmacéuticamente aceptables (incluyendo agua); por consiguiente, se pretende que la invención abarque las formas tanto solvatadas como no solvatadas. El término "solvato" se refiere a un complejo molecular de un compuesto de la presente invención (incluyendo las sales farmacéuticamente aceptables del mismo), con una o más moléculas de disolvente. Estas

moléculas de disolvente son aquéllas comúnmente utilizadas en la técnica farmacéutica, que son conocidas como inocuas para el receptor, por ejemplo, agua, etanol, y similares. El término "hidrato" se refiere al complejo en donde la molécula de disolvente es agua.

5 Los compuestos de la presente invención, incluyendo las sales, hidratos y solvatos de los mismos, pueden formar, inherentemente o por diseño, polimorfos.

COMPOSICIONES:

10 En otro aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica, la cual comprende un compuesto de la presente invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable. En una realización adicional, la composición comprende al menos dos vehículos farmacéuticamente
15 aceptables, tales como aquellos descritos en el presente documento. Para los propósitos de la presente invención, a menos que sean designados de otra manera, los solvatos e hidratos son considerados en términos generales como composiciones. Preferentemente, los vehículos farmacéuticamente aceptables son estériles. La composición farmacéutica se puede formular para vías de administración particulares, tales como administración oral, administración parenteral, y administración rectal, etc. Además, las composiciones farmacéuticas de la presente
20 invención se pueden componer en una forma sólida (incluyendo, sin limitación, cápsulas, comprimidos, píldoras, gránulos, polvos o supositorios), o en una forma líquida (incluyendo, sin limitación, soluciones, suspensiones o emulsiones). Las composiciones farmacéuticas se pueden someter a las operaciones farmacéuticas convencionales, tales como esterilización y/o pueden contener diluyentes inertes convencionales, agentes lubricantes, o agentes tampones, así como adyuvantes, tales como conservantes, estabilizantes, agentes humectantes, emulsionantes y
25 tampones, etc.

Típicamente, las composiciones farmacéuticas son comprimidos o cápsulas de gelatina que comprenden el ingrediente activo junto con uno o más de:

a) diluyentes, por ejemplo, lactosa, dextrosa, sacarosa, manitol, sorbitol, celulosa y/o glicina;

25 b) lubricantes, por ejemplo, sílice, talco, ácido esteárico, su sal de magnesio o de calcio y/o polietilenglicol; para comprimidos también,

c) aglutinantes, por ejemplo, silicato de magnesio y aluminio, pasta de almidón, gelatina, tragacanto, metilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica y/o polivinilpirrolidona; si se desea,

d) desintegrantes, por ejemplo, almidones, agar, ácido algínico, o su sal sódica, o mezclas efervescentes; y

e) absorbentes, colorantes, saborizantes y edulcorantes.

30 Los comprimidos pueden ser con recubrimiento de película o bien con recubrimiento entérico de acuerdo con los métodos conocidos en la técnica.

Las composiciones adecuadas para su administración oral incluyen una cantidad efectiva de un compuesto de la invención, en la forma de tabletas, grageas, suspensiones acuosas u oleosas, polvos o gránulos dispersables, emulsión, cápsulas duras o blandas, o jarabes o elixires. Las composiciones destinadas para su uso oral se
35 preparan de acuerdo con cualquier método conocido en la materia para la elaboración de composiciones farmacéuticas, y estas composiciones pueden contener uno o más agentes seleccionados a partir del grupo que consiste en agentes edulcorantes, agentes saborizantes, agentes colorantes y agentes conservantes, con el objeto de proporcionar preparaciones farmacéuticamente elegantes y de buen sabor. Las tabletas pueden contener al ingrediente activo en mezcla con excipientes farmacéuticamente aceptables no tóxicos que sean adecuados para la
40 elaboración de tabletas. Estos excipientes son, por ejemplo, diluyentes inertes, tales como carbonato de calcio, carbonato de sodio, lactosa, fosfato de calcio o fosfato de sodio; agentes de granulación y desintegrantes, por ejemplo, almidón de maíz, o ácido algínico; agentes aglutinantes, por ejemplo, almidón, gelatina o acacia; y agentes lubricantes, por ejemplo, estearato de magnesio, ácido esteárico o talco. Las tabletas quedan sin recubrimiento o se recubren mediante las técnicas conocidas para retardar la desintegración y absorción en el tracto gastrointestinal y
45 proporcionar de esta manera una acción sostenida durante un período más largo. Por ejemplo, se puede emplear un material de retraso de tiempo, tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo. Las formulaciones para uso oral se pueden presentar como cápsulas de gelatina duras en donde el ingrediente activo se mezcla con un diluyente sólido inerte, por ejemplo, carbonato de calcio, fosfato de calcio o caolín, o como cápsulas de gelatina blanda en donde el ingrediente activo se mezcla con agua o con un medio oleoso, por ejemplo, aceite de cacahuete,
50 parafina líquida o aceite de oliva.

Ciertas composiciones inyectables son soluciones o suspensiones isotónicas acuosas, y los supositorios se preparan convenientemente a partir de emulsiones o suspensiones grasas. Dichas composiciones pueden esterilizarse y/o pueden contener adyuvantes, tales como agentes conservantes, estabilizantes, humectantes o

emulsionantes, promotores de solución, sales para regular la presión osmótica y/o tampones. En adición, también pueden contener otras sustancias terapéuticamente valiosas. Estas composiciones se preparan de acuerdo con los métodos convencionales de mezcla, granulación o recubrimiento, respectivamente, y contienen aproximadamente el 0,1-75 %, o contienen aproximadamente el 1-50 %, del ingrediente activo.

- 5 Las composiciones adecuadas para su aplicación transdérmica incluyen una cantidad eficaz de un compuesto de la invención con un vehículo adecuado. Los vehículos adecuados para suministro transdérmico incluyen disolventes farmacológicamente aceptables absorbibles para ayudar a la etapa a través de la piel del huésped. Por ejemplo, los dispositivos transdérmicos están en la forma de un parche que comprende un miembro de respaldo, un depósito que contiene al compuesto opcionalmente con vehículos, opcionalmente una barrera de control de velocidad para suministrar el compuesto de la piel del huésped a una velocidad controlada y previamente determinada durante un período de tiempo prolongado, y elementos para asegurar el dispositivo a la piel.

- 15 Las composiciones adecuadas para su aplicación tópica, por ejemplo, a la piel y a los ojos, incluyen soluciones acuosas, suspensiones, ungüentos, cremas, geles o formulaciones rociables, por ejemplo, para su suministro mediante aerosol o similares. Estos sistemas de suministro tópico serán particularmente apropiados para la aplicación dérmica, por ejemplo, para el tratamiento de cáncer de piel, por ejemplo, para su uso profiláctico en cremas solares, lociones, aspersiones y similares. Por consiguiente, éstas son particularmente adecuadas para usarse en formulaciones tópicas, incluyendo cosméticas bien conocidas en este campo. Pueden contener solubilizantes, estabilizantes, agentes mejoradores de la tonicidad, tampones, y conservantes.

- 20 Como se usa en el presente documento, una aplicación tópica también puede pertenecer a una inhalación o a una aplicación intranasal. Se pueden suministrar de una manera conveniente en la forma de un polvo seco (ya sea solo, como una mezcla, por ejemplo, una mezcla seca con lactosa, o una partícula componente mixta, por ejemplo, con fosfolípidos) a partir de un inhalador de polvo seco o de una presentación de aspersion en aerosol a partir de un envase presurizado, bomba, aspersor, atomizador, o nebulizador, con o sin el uso de un propulsor adecuado. Los compuestos de fórmula I en forma libre o en una forma de sal farmacéuticamente aceptable, exhiben valiosas propiedades farmacológicas, por ejemplo, propiedades moduladoras de la proteína BET, por ejemplo, como se indica en las pruebas proporcionadas en las siguientes secciones y, por consiguiente, se indican para terapia o para usarse como productos químicos de investigación, por ejemplo, como compuestos de herramienta.

- 25 Teniendo consideración de su actividad como inhibidores de BET, los compuestos de fórmula (I), en forma libre o de sal farmacéuticamente aceptable, son útiles en el tratamiento de las afecciones que sean mediadas por la actividad de las proteínas BET, tales como cáncer, y/o que respondan (significando en especial de una manera terapéuticamente benéfica) a la inhibición de una proteína BET, más especialmente una enfermedad o un trastorno como se menciona más adelante en el presente documento.

- 30 Se cree que los compuestos de la invención son útiles en el tratamiento de enfermedades o trastornos, tales como cáncer. En particular, estos cánceres incluyen tumores benignos o malignos, un sarcoma de tejido blando o un sarcoma tal como liposarcoma, rhabdomyosarcoma o cáncer de huesos, por ejemplo, osteosarcoma, un carcinoma, tal como del cerebro, riñón, hígado, glándula adrenal, vejiga, mama, gástrico, ovario, colon, recto, próstata, páncreas, pulmón (incluyendo cáncer pulmonar microcítico), vagina o tiroides, un glioblastoma, meningioma, glioma, mesotelioma, un tumor neuroendocrino tal como neuroblastoma, un mieloma múltiple, un cáncer gastrointestinal, en especial carcinoma de colon o adenoma colo-rectal, un tumor de la cabeza y el cuello, un melanoma, una hiperplasia de próstata, una neoplasia, una neoplasia de carácter epitelial, una neoplasia originada a partir de sangre o médula ósea, una leucemia, tal como leucemia mieloide aguda (AML) o leucemia linfoblástica aguda (ALL) o leucemia linfocítica crónica de células-B, un linfoma, tal como de origen de células B o de células T, tal como el linfoma de células B grande difuso (DLBCL), carcinoma de la línea media de NUT o cualquier otra neoplasia con reconfiguraciones cromosómicas de los genes de BET, y metástasis en otros órganos. En particular, se cree que los compuestos de la invención son útiles en un cáncer seleccionado de una neoplasia originada a partir de sangre o médula ósea; una leucemia, tal como leucemia mieloide aguda (AML) o leucemia linfoblástica aguda (ALL) o leucemia linfocítica crónica de células-B; un linfoma, tal como de origen de células-B o de células-T, tal como el linfoma de células-B grande difuso (DLBCL); carcinoma de la línea media de NUT o cualquier otra neoplasia con reconfiguraciones cromosómicas de los genes de BET, un tumor neuroendocrino tal como neuroblastoma; un mieloma múltiple; un cáncer de pulmón (incluyendo cáncer pulmonar microcelular); y un cáncer de colon.

Los compuestos de la invención también pueden ser útiles en el tratamiento de aterosclerosis, enfermedad de arterias coronarias, dislipidemia, diabetes, y otras enfermedades cardiovasculares, y/o como agentes antivíricos.

- 55 Por consiguiente, como una realización adicional, la presente invención proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I), o de una sal del mismo, en terapia. En una realización adicional, la terapia se selecciona de una enfermedad que pueda tratarse mediante la inhibición de las proteínas BET. En otra realización, la enfermedad es una enfermedad de cáncer seleccionada a partir de la lista anteriormente mencionada.

Por consiguiente, como una realización adicional, la presente invención proporciona un compuesto de la fórmula (I),

o una sal del mismo, para usarse en terapia. En una realización adicional, la terapia se selecciona de una enfermedad que se pueda tratar mediante la inhibición de una proteína BET. En otra realización, la enfermedad es una enfermedad de cáncer seleccionada de la lista anteriormente mencionada. Se desvela además un método para el tratamiento de una enfermedad que se trate mediante la inhibición de una proteína BET, que comprende la administración de una cantidad terapéuticamente aceptable de un compuesto de fórmula (I) o de una sal del mismo. En una realización, la enfermedad es una enfermedad de cáncer seleccionada de la lista anteriormente mencionada. Se desvela también el uso de un compuesto de fórmula (I) o de una sal del mismo, para la elaboración de un medicamento. En una realización, el medicamento es para el tratamiento de una enfermedad que pueda tratarse mediante la inhibición de una proteína BET. En otra realización, la enfermedad es una enfermedad de cáncer seleccionada de la lista anteriormente mencionada. La composición o combinación farmacéutica de la presente invención puede estar en una dosificación unitaria de aproximadamente 1-1000 mg de ingrediente o ingredientes activos para un sujeto de aproximadamente 50-70 kg, o de aproximadamente 1-500 mg, o de aproximadamente 1-250 mg, o de aproximadamente 1-150 mg, o de aproximadamente 0,5-100 mg, o de aproximadamente 150 mg de ingredientes activos. La dosificación terapéuticamente eficaz de un compuesto, de la composición farmacéutica, o de las combinaciones de los mismos, depende de la especie del sujeto, del peso corporal, la edad y la condición individual, del trastorno o de la enfermedad, o de la gravedad de la misma, que sea tratada. Un médico, clínico, o veterinario de una experiencia ordinaria puede determinar fácilmente la cantidad efectiva de cada uno de los ingredientes activos necesarios para prevenir, tratar o inhibir el progreso del trastorno o de la enfermedad.

Las propiedades de dosificación anteriormente citadas se pueden demostrar en pruebas *in vitro* e *in vivo* utilizando convenientemente mamíferos, por ejemplo, ratones, ratas, perros, monos u órganos aislados, tejidos y preparaciones de los mismos. Los compuestos de la presente invención se pueden aplicar *in vitro* en la forma de soluciones, por ejemplo, soluciones acuosas, e *in vivo* ya sea enteralmente, parenteralmente, convenientemente intravenosamente, por ejemplo, como una suspensión o en solución acuosa. La dosificación *in vitro* puede estar en el intervalo de concentraciones de entre aproximadamente 10^{-3} molar y 10^{-9} molar. Una cantidad terapéuticamente efectiva *in vivo*, dependiendo de la vía de administración, puede estar en el intervalo de aproximadamente 0,1-500 mg/kg, o de aproximadamente 1-100 mg/kg.

El compuesto de la presente invención puede administrarse ya sea simultáneamente con, o antes o después de, uno o más agentes terapéuticos diferentes. El compuesto de la presente invención se puede administrar por separado, por la misma o diferente vía de administración, o juntos en la misma composición farmacéutica que los otros agentes. Un agente terapéutico es, por ejemplo, un compuesto químico, péptido, anticuerpo, fragmento de anticuerpo o ácido nucleico, el cual es terapéuticamente activo o potencia la actividad terapéutica cuando se administra a un paciente en combinación con un compuesto de la invención.

COMBINACIONES

En una realización, la invención proporciona un producto que comprende un compuesto de fórmula (I) y al menos otro agente terapéutico como una preparación combinada para su uso simultáneo, separado, o en secuencia, en terapia. En una realización, la terapia es el tratamiento de una enfermedad o afección mediada por una proteína BET. Los productos proporcionados como una preparación combinada incluyen una composición que comprende el compuesto de fórmula (I) y los otros agente o agentes terapéuticos juntos en la misma composición farmacéutica, o el compuesto de fórmula (I) y los otros agente o agentes terapéuticos en una forma separada, por ejemplo, en forma de un kit.

En una realización, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) y otros agente o agentes terapéuticos. Opcionalmente, la composición farmacéutica puede comprender un vehículo farmacéuticamente aceptable, como se describe anteriormente.

En una realización, la invención proporciona un kit que comprende dos o más composiciones farmacéuticas separadas, al menos una de las cuales contiene un compuesto de fórmula (I). En una realización, el kit comprende medios para contener por separado estas composiciones, tales como un recipiente, un frasco dividido, o un paquete de lámina dividido. Un ejemplo de este kit es un paquete de burbujas, como se utiliza típicamente para el empaque de tabletas, cápsulas y similares.

El kit de la invención puede utilizarse para administrar formas de dosificación diferentes, por ejemplo, oral y parenteral, para administrar las composiciones separadas en diferentes intervalos de dosificación, o para titular las composiciones separadas una contra la otra. Para ayudar al cumplimiento, el kit de la invención típicamente comprende instrucciones para su administración.

En las terapias de combinación de la invención, el compuesto de la invención y el otro agente terapéutico pueden elaborarse y/o formularse por el mismo o por diferentes fabricantes. Además, el compuesto de la invención y el otro agente terapéutico pueden reunirse en una terapia de combinación: (i) antes de la liberación del producto de combinación a los médicos (por ejemplo, en el caso de un kit que comprenda el compuesto de la invención y el otro agente terapéutico); (ii) por los médicos mismos (o bajo la guía del médico) poco antes de la administración; (iii) en

los pacientes mismos, por ejemplo, durante la administración en secuencia del compuesto de la invención y el otro agente terapéutico. Se desvela el uso de un compuesto de fórmula (I) para el tratamiento de una enfermedad o afección mediada por una proteína BET, en el que el medicamento se prepara para su administración con otro agente terapéutico. La invención también proporciona el uso de otro agente terapéutico para el tratamiento de una enfermedad o afección mediada por una proteína BET, en el que el medicamento se administra con un compuesto de fórmula (I).

La invención también proporciona un compuesto de fórmula (I) para su uso en un método para el tratamiento de una enfermedad o afección mediada por una proteína BET, en donde el compuesto de la fórmula (I) se prepara para su administración con otro agente terapéutico. Se desvela otro agente terapéutico para usarse en un método para el tratamiento de una enfermedad o afección mediada por una proteína BET, en donde el otro agente terapéutico se prepara para su administración con un compuesto de la fórmula (I). La invención también proporciona un compuesto de la fórmula (I) para usarse en un método para el tratamiento de una enfermedad o afección mediada por una proteína BET, en donde el compuesto de la fórmula (I) se administra con otro agente terapéutico. Se desvela otro agente terapéutico para usarse en un método para el tratamiento de una enfermedad o afección mediada por una proteína BET, en donde el otro agente terapéutico se administra con un compuesto de la fórmula (I).

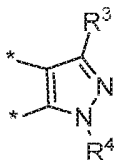
La invención también proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I) para el tratamiento de una enfermedad o afección mediada por una proteína BET, en el que el paciente ha sido tratado previamente (por ejemplo, dentro de 24 horas) con otro agente terapéutico. La invención también proporciona el uso de otro agente terapéutico para el tratamiento de una enfermedad o afección mediada por una proteína BET, en donde el paciente ha sido tratado previamente (por ejemplo, dentro de 24 horas), con un compuesto de fórmula (I). En una realización, el otro agente terapéutico es un agente contra el cáncer.

En una realización adicional, el otro agente terapéutico es un modulador de un objetivo en el campo de la epigenética, tal como un inhibidor de desacetilasa de histona (HDAC), o un inhibidor de metil-transferasa de histona (HMT).

25 ESQUEMAS GENÉRICOS

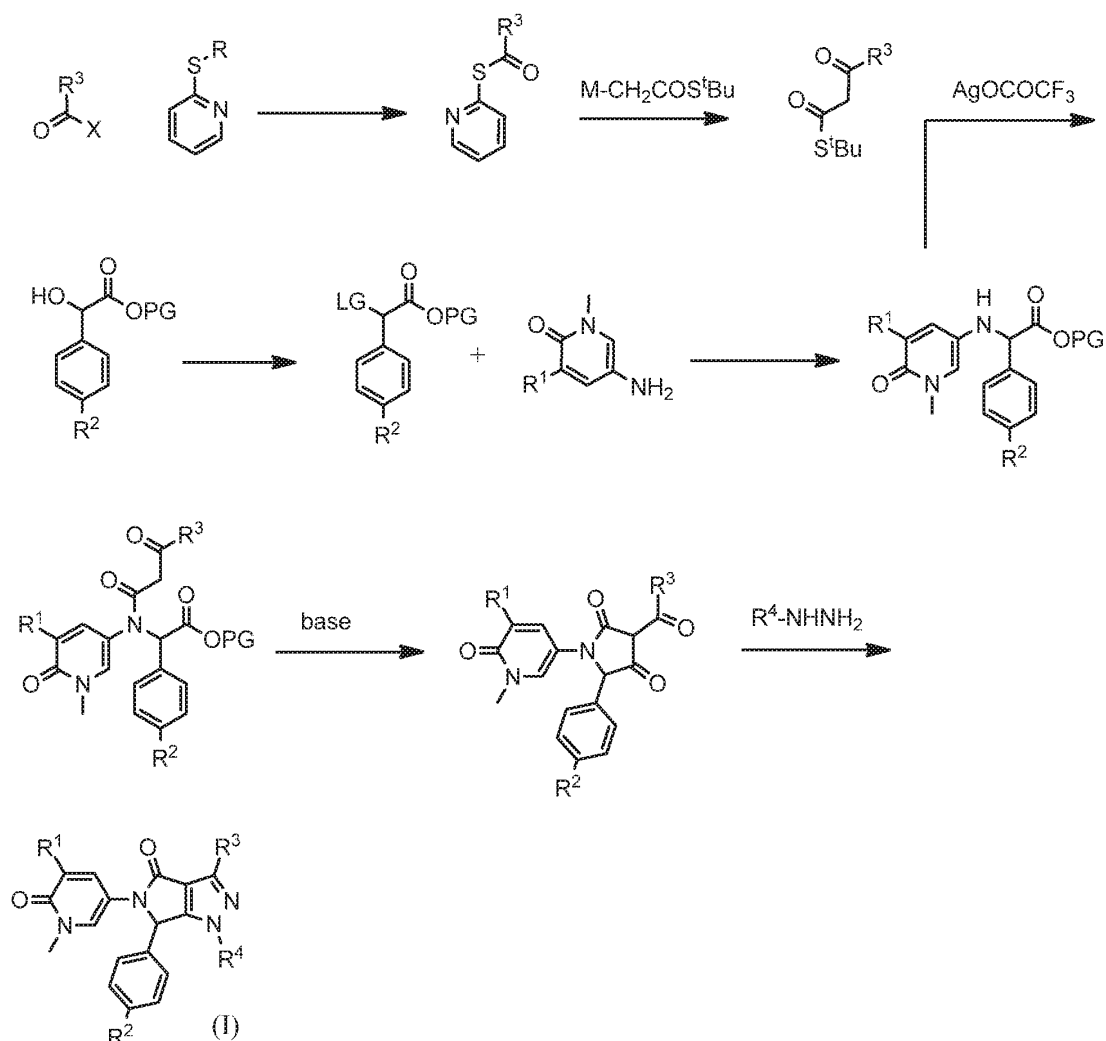
Típicamente, los compuestos de fórmula (I) pueden prepararse de acuerdo con los Esquemas proporcionados a continuación.

Los compuestos de fórmula (I), en la que C es:



30 y R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶ y R⁷ son como se definen en la Realización 1, pueden prepararse como se describe en el esquema 1.

Esquema 1



en el que:

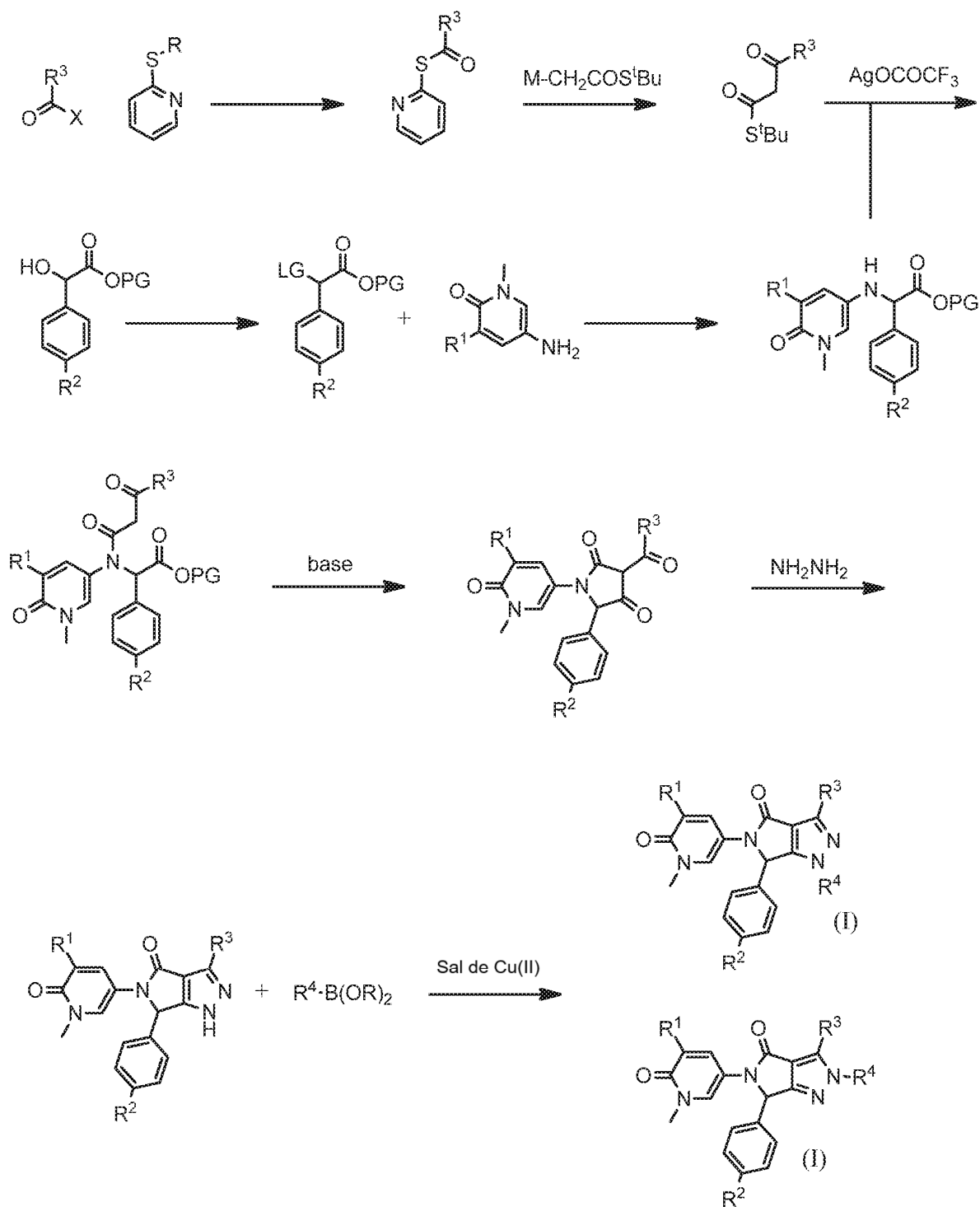
- 5 R es -H o -S-(piridin-2-ilo);
 X es -OH o Cl;
 M es un metal adecuado, tal como Li o Na;
 LG es un grupo saliente adecuado, tal como mesilato; y
 PG es un grupo protector de ácido adecuado, tal como metilo.

10 El Esquema 1 ilustra un método para la preparación de los compuestos de la invención (por ejemplo, Ejemplos 1-7 y 10-17). Un ácido carboxílico o cloruro de ácido se convierte con 1,2-di-(piridin-2-il)-disulfano o piridin-2-tiol en el derivado de éster de 2-tiopiridina correspondiente, el cual se puede hacer reaccionar con etanotioato de S-tercbutilo en la presencia de una base fuerte apropiada (LiHMDS, NaHMDS), para proporcionar el derivado de beta-ceto-tioéster correspondiente. La conversión del alcohol secundario del derivado de 2-aril-2-hidroxi-acetato correspondiente en un grupo saliente, por ejemplo, con (a) cloruro de metan-sulfonilo, o anhídrido metansulfónico en la presencia de una base orgánica tal como piridina (junto con una cantidad catalítica de 4-dimetil-amino-piridina) o trietil-amina, o (b) 1-cloro-N,N,2-trimetil-propenil-amina, seguida por la reacción con la amina correspondiente a temperaturas de entre -20 °C y 50 °C, da como resultado la introducción de la fracción 5-amino-1-metil-piridin-2(1H)-ona que contiene diferentes sustituyentes R¹ en C-3. La amina secundaria resultante se hace reaccionar con un derivado de β-ceto-tioéster en la presencia de trifluoro-acetato de plata(I) a temperatura ambiente, para proporcionar el derivado de β-ceto-tioamida correspondiente. La siguiente condensación de Claisen hasta la beta-dicetonona ciclada se puede efectuar bajo condiciones básicas (a) ya sea con CsF en N,N-dimetil-formamida (DMF) a una temperatura de entre 20-100 °C, o (b) con etóxido de sodio en EtOH a una temperatura elevada. El derivado de pirazolo-pirrolidinona usualmente se genera mediante la condensación del derivado de beta-dicetonona con la hidrazina que contiene R⁴ correspondiente en un disolvente, tal como metanol o etanol, a una temperatura elevada, 25 preferentemente de entre 60-150 °C. Para la condensación del derivado de beta-dicetonona con las hidrazinas que

contienen arilo y heteroarilo, la etapa de deshidratación final hasta la pirazolo-pirrolidinona se puede facilitar mediante la adición de ácido acético o una combinación de ácido acético y ácido sulfámico, y a una temperatura elevada, preferentemente de entre 100-150 °C en un horno de microondas.

De una manera alternativa, los compuestos de fórmula (I), en la que C, R¹, R², R³, R⁴, R⁵ y R⁶ son como se definen en la Realización 1, pueden prepararse como se describe en el Esquema 2.

Esquema 2



en el que X, M, LG y PG son como se definen en el Esquema 1.

El Esquema 2 ilustra una modificación del método mostrado en el Esquema 1 para la preparación de los compuestos

de la invención (por ejemplo, Ejemplos 8-9 y 18-21). Este método es similar a aquél descrito en el Esquema 1, excepto que el sustituyente R⁴ se introduce mediante un acoplamiento de Chan-Lam. El derivado de pirazolo-pirrolidinona N-insustituído se trata con el derivado de ácido borónico que contiene R⁴ y una sal de Cu(II) apropiada, tal como Cu(OAc)₂, y piridina en un disolvente apropiado, tal como acetonitrilo, a una temperatura elevada, preferentemente de entre 60 °C y 80 °C.

La invención incluye además cualquier variante de los presentes procesos, en la que se utiliza como material de partida un producto intermedio que se pueda obtener en cualquier etapa de los mismos, y se llevan a cabo las etapas restantes, o en donde los materiales de partida se forman *in situ* bajo las condiciones de reacción, o en donde los componentes de la reacción se utilizan en la forma de sus sales como el material ópticamente puro. Los compuestos de la invención e intermedios también se pueden convertir unos en otros de acuerdo con los métodos conocidos generalmente por los expertos en la materia.

MÉTODOS SINTÉTICOS

Los siguientes ejemplos pretenden ilustrar la invención y no deben interpretarse como limitaciones sobre la misma. Las temperaturas se dan en grados Celsius. Si no se menciona de otra manera, todas las evaporaciones se llevan a cabo a presión reducida, típicamente entre aproximadamente 0,019 a 0,13 Pa (15 mm Hg y 100 mm Hg (= de 20 a 133 mbar)). La estructura de los productos finales, intermedios y materiales de partida, se confirma mediante los métodos analíticos convencionales, por ejemplo, microanálisis y características espectroscópicas, por ejemplo, MS, IR, RMN. Las abreviaturas empleadas son aquéllas convencionales en la materia.

Todos los materiales de partida, bloques de construcción, reactivos, ácidos, bases, agentes deshidratantes, disolventes, y catalizadores utilizados para sintetizar los compuestos de la presente invención son cualquiera de aquellos comercialmente disponibles, o se pueden producir mediante los métodos de síntesis orgánica conocidos por un experto ordinario en este campo. Además, los compuestos de la presente invención se pueden producir mediante los métodos de síntesis orgánica conocidos por un experto ordinario en este campo, como se muestra en los siguientes ejemplos.

25 Abreviaturas

ACN	acetonitrilo
Ac ₂ O	anhídrido de ácido acético
aq.	acuoso
Ar	argón
30 Boc	tercbutoxi-carbonilo
Salmuera	solución saturada (a temperatura ambiente) de cloruro de sodio
s. a.	singlete amplio
CH ₂ Cl ₂	diclorometano
Cu(OAc) ₂	acetato de cobre(II)
35 d	doblete
DIPEA	di-isopropil-etil-amina
DMAP	4-dimetil-amino-piridina
DMF	N,N-dimetilformamida
DMSO	sulfóxido de dimetilo
40 eq.	equivalentes
ESI-MS	ionización por electropulverización - espectrometría de masas
EtOAc	acetato de etilo
EtOH	etanol
h	hora u horas
45 H ₂ O	agua
K ₂ CO ₃	carbonato potásico
K ₃ PO ₄	fosfato potásico
CL-EM	cromatografía de líquidos - espectrometría de masas
LiHMDS	hexametil-disilazida de litio
50 m	multiplete
MeOH	metanol
MgSO ₄	sulfato de magnesio
min	minuto o minutos
ml	mililitro o mililitros
55 EM	espectrometría de masas
Ms ₂ O	anhídrido metansulfónico
MW	microondas
NaHCO ₃	bicarbonato sódico
NaOH	hidróxido sódico

	Na ₂ SO ₄	sulfato de sodio
	NH ₄ Cl	cloruro de amonio
	RMN	resonancia magnética nuclear
	ppm	partes por millón
5	R _f	proporción de frentes
	ta (o TA)	temperatura ambiente
	s	singlete
	sat.	saturado
10	SFC	cromatografía de fluidos supercríticos
	t	triplete
	t _R	tiempo de retención
	TFA	ácido trifluoroacético
	THF	tetrahidrofurano
	TurboGrignard	iPrMgCl·LiCl
15	UPLC	cromatografía de líquidos de ultra-alto rendimiento

Método de UPLC:

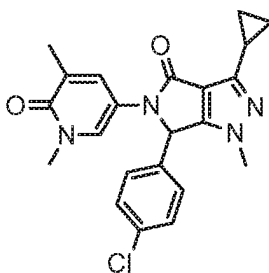
UPLC 1:

20 Columna: Acquity UPLC HSS T3 C18, 1,7 μm 2,1 x 50 mm, flujo: 1,0 ml / min, Temperatura de la columna: 30 °C, Gradiente: del 5 % al 100 % de B en 1,5 min, 100 % de B durante 1 min, A = agua + TFA al 0,1 %, B = ACN + TFA al 0,1 %

Método de CL-EM:

CL-EM 1:

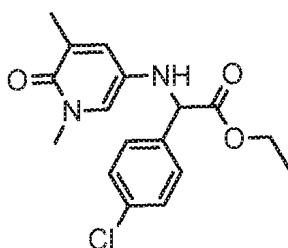
25 Columna: Waters Acquity HSS T3, 1,8 μm, 2,1 x 50 mm, horno a 60 °C, Flujo: 1,0 ml/min, Gradiente: del 5 % al 98 % de B en 1,40 min, después 98 % de B durante 0,40 min, del 98 % al 5 % de B en 0,10 min, 5 % de B durante 0,10 min; A = agua + ácido fórmico al 0,05 % + acetato de amonio 3,75 mM, B = ACN + ácido fórmico al 0,04 %, Detección UV/VIS (DAD), ESI (+/-), Intervalo del espectrómetro de masas : 100-1,200 Da.

Ejemplo 1: 6-(4-clorofenil)-3-ciclopropil-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-metil-5,6-dihidropirrololo-[3,4-c]-pirazol-4(1H)-ona

30 A una solución de 5-(4-clorofenil)-3-(ciclopropan-carbonil)-1-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-pirrolidina-2,4-diona (160 mg, 0,4 mmol) en MeOH (1,5 ml), se añadió metil-hidrazina (38 mg, 0,8 mmol), y la mezcla de reacción se agitó en el MW durante 2,5 h a 110 °C. La mezcla de reacción se concentró, y el aceite residual se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (hexano/EtOAc/MeOH, 75:25:5 a 0:100:10), para proporcionar el producto del título (110 mg, 67 % de rendimiento) como una espuma color amarillo claro. t_R: 0,881 min (UPLC 1); t_R: 0,89 min (CL-EM 1); ESI-MS: 409 / 411 [M+H]⁺ (CL-EM 1); RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 0,94 -1,12 (m, 4 H) 1,93 (s, 3 H) 1,98 (m, 1 H) 3,35 (s, 3H) 3,43 (s, 3 H) 6,23 (s, 1 H) 7,28 - 7,34 (m, 3 H) 7,44 (d, J = 8,4 Hz, 2 H) 7,63 (d, J = 2,7 Hz, 1 H).

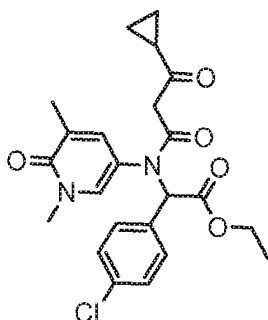
35

Etapa 1,1: 2-(4-clorofenil)-2-((1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-amino)-acetato de etilo



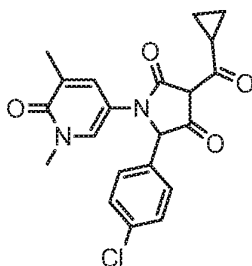
A una solución de 2-(4-clorofenil)-2-hidroxi-acetato de etilo (3,22 g, 15 mmol), y NEt₃ (10,45 ml, 75,0 mmol) en CH₂Cl₂ (60 ml), se añadió, a 0 °C, Ms₂O (5,23 gramos, 30,0 mmol). La mezcla de reacción resultante se agitó durante 0,5 h a 0 °C. A la mezcla de reacción se añadió 5-amino-1,3-dimetil-piridin-2(1H)-ona (1,946 gramos, 12,00 mmol), y la mezcla de reacción se dejó calentar hasta la temperatura ambiente. Después de calentar durante 16 h a 40-45 °C, la mezcla de reacción se añadió a una solución saturada de NaHCO₃ y EtOAc, y el producto se extrajo con EtOAc. Los extractos combinados se lavaron con una pequeña cantidad de salmuera, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron, y se concentraron. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (hexano/EtOAc/ MeOH, 80:20:2 a 0:100:10), para proporcionar el producto del título (3,0 g, 59 % de rendimiento), como una espuma color marrón. t_R: 0,939 min (UPLC 1); t_R: 0,93 min (CL-EM 1); ESI-MS: 335 / 337 [M+H]⁺ (CL-EM 1); R_f = 0,30 (EtOAc/MeOH, 9:1); RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 1,14 (t, J = 7,1 Hz, 3 H) 2,05 (s, 3 H) 3,31 (s, 3 H) 4,01 - 4,23 (m, 2 H) 4,63 (m, 1 H) 6,11 (s. a., 1 H) 6,88 (s. a., 1 H) 7,24 - 7,35 (m, 4 H).

Etapa 1,2: 2-(4-clorofenil)-2-(3-ciclopropil-N-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-3-oxo-propanamido)-acetato de etilo



A una solución de 2-(4-clorofenil)-2-((3,8-dimetil-[1,2,4]-triazolo-[4,3-a]-piridin-6-il)-amino)-acetato de etilo (etapa 1,1) (1,005 gramos, 3,0 mmol), y 3-ciclopropil-3-oxo-propanoato de S-tercbutilo (etapa 1,5) (785 mg, 3,9 mmol) en tetrahidrofurano (THF) (25 ml), se añadió trifluoro-acetato de plata (861 mg, 3,9 mmol), a temperatura ambiente. La solución color marrón resultante se agitó durante 0,5 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró sobre Celite, el filtrado se concentró, y el producto bruto resultante se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (hexano/EtOAc, de 90:10 a 0:100), para proporcionar el producto del título (1,13 gramos, 82 % de rendimiento), como una espuma rojiza. R_f = 0,18 (EtOAc); t_R: 0,955 min (UPLC 1); t_R: 0,94 min (CL-EM 1); ESI-MS: 445 / 447 [M+H]⁺ (CL-EM 1).

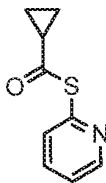
Etapa 1,3: 5-(4-clorofenil)-3-(ciclopropan-carbonil)-1-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-pirrolidina-2,4-diona



A una solución de 2-(4-clorofenil)-2-(3-ciclopropil-N-(3,8-dimetil-[1,2,4]-triazolo-[4,3-a]-piridin-6-il)-3-oxo-propanamido)-acetato de etilo (etapa 1,2) (1,0 gramo, 2,25 mmol) en N,N-dimetil-formamida (DMF) (10 ml), se añadió, bajo argón (Ar) a temperatura ambiente, CsF (0,7 gramos, 2 mmol), y la solución color marrón oscuro resultante se agitó durante 16 h a 60 °C. La mezcla de reacción se concentró, y al residuo se añadió un H₂SO₄ 1 N frío, y el producto se extrajo con EtOAc. Los extractos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron, se concentraron, y se secaron a 60 °C para proporcionar el producto del título (625 mg, 70 %).

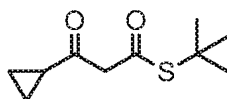
como una espuma amarilla. t_R : 1,083 min (UPLC 1); t_R : 0,86 min (CL-EM 1); ESI-MS: 399 / 401 [M+H]⁺ (CL-EM 1).

Etapa 1,4: Ciclopropan-carbotioato de S-piridin-2-ilo



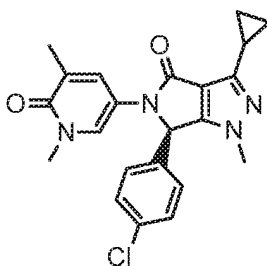
- 5 A una solución de piridin-2-tiol (29,2 gramos, 260 mmol) en tetrahidrofurano (THF) (260 ml), se añadió, bajo argón (Ar), cloruro de ciclopropan-carbonilo (27,7 gramos, 260 mmol), a temperatura ambiente, y la mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 0,5 h. La sal de HCl precipitada se filtró y se lavó con Et₂O-hexano, 1:4, y hexano. El precipitado amarillo claro se añadió a una solución saturada de NaHCO₃ y EtOAc, y el producto se extrajo con EtOAc. Los extractos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron, y se concentraron, para proporcionar el compuesto del título (37,3 gramos, 80 % de rendimiento), como un aceite color amarillo. t_R : 0,79 min (CL-EM 1); ESI-MS: 180 [M+H]⁺ (CL-EM 1); RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 0,83 -1,03 (m, 2 H) 1,09 -1,28 (m, 2 H) 1,91 -2,16 (m, 1 H) 7,10 - 7,28 (m, 1 H) 7,60 - 7,74 (m, 1 H) 8,55 (dd, J = 4,8, 1,1 Hz, 1 H).

Etapa 1,5: 3-ciclopropil-3-oxo-propanotioato de S-tercbutilo



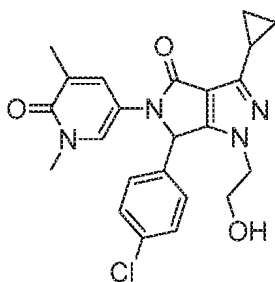
- 15 A una solución de ciclopropan-carbotioato de S-piridin-2-ilo (etapa 1,4) (16,5 gramos, 92 mmol) en tetrahidrofurano (THF) (250 ml), se añadió, bajo argón (Ar), una solución de LiHMDS 1M en tetrahidrofurano (THF) (229 ml, 229 mmol) a < -70 °C. A la mezcla de reacción se añadió una solución de etanotioato de S-tercbutilo (14,0 ml, 96 mmol) en tetrahidrofurano (THF) (30 ml) por debajo de -70 °C. Después de agitar durante 0,5 h a -78 °C. La mezcla de reacción se calentó lentamente hasta -50 °C durante un período de 1 h. Después de completarse, la mezcla de reacción se añadió a 300 ml H₂SO₄ 1 N frío y hielo, y el producto se extrajo con EtOAc. Los extractos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron, y se concentraron. El aceite bruto se volvió a disolver en Et₂O, se mantuvo a 0 °C durante 14 h, se filtró a través de un tapón corto de gel de sílice, y se concentró nuevamente para proporcionar el producto del título (18,3 gramos, 95 % de rendimiento), como un aceite color amarillo. t_R : 1,089 min (UPLC 1); t_R : 1,06 min (CL-EM 1); ESI-MS: 201 [M+H]⁺ (CL-EM 1); R_f = 0,59 (EtOAc); RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 0,80 (m, 2 H) 0,91 - 0,99 (m, 2 H) 1,33 (s, 9 H) 1,92 (m, 1 H) 3,53 (s, 2 H).

- 25 **Ejemplo 2: (R)-6-(4-clorofenil)-3-ciclopropil-5-(3,8-dimetil-[1,2,4]-triazolo-[4,3-a]-piridin-6-il)-1-metil-5,6-dihidropirrolo-[3,4-c]-pirazol-4(1H)-ona**



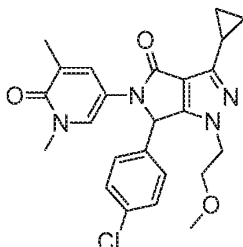
- El compuesto del título (33 mg, 45 % de rendimiento) se obtuvo enantioméricamente puro (>99 % de ee), como un sólido blanco después de la cromatografía de preparación quiral (sistema: SFC-PicLab-Prep 100; columna: Chiralpak IA, 5 μ m, 20 x 250 mm; fase móvil: heptano/etanol/CH₂Cl₂, 60:20:20 (isocrática); flujo: 10 ml/ minuto; detección UV: 245 nm) de la mezcla racémica de la 6-(4-clorofenil)-3-ciclopropil-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-metil-5,6-dihidropirrolo-[3,4-c]-pirazol-4(1H)-ona (Ejemplo 1) (72 mg, 0,176 mmol), y la trituración del residuo resultante en Et₂O. t_R : 0,88 min (CL-EM 1); ESI-MS: 409 / 411 [M+H]⁺ (CL-EM 1); RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 0,94 -1,12 (m, 4 H) 1,93 (s, 3 H) 1,98 (m, 1 H) 3,35 (s, 3H) 3,43 (s, 3 H) 6,23 (s, 1 H) 7,28 - 7,34 (m, 3 H) 7,44 (d, J = 8,4 Hz, 2 H) 7,63 (d, J = 2,7 Hz, 1 H).

Ejemplo 3: 6-(4-clorofenil)-3-ciclopropil-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-(2-hidroxi-etil)-5,6-dihidropirrolo-[3,4-c]-pirazol-4(1H)-ona



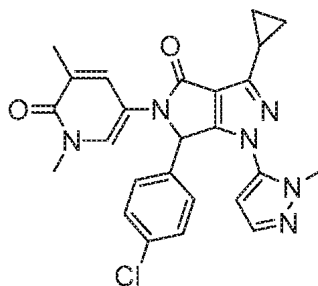
5 El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito en el Ejemplo 1, utilizando la 5-(4-clorofenil)-3-(ciclopropan-carbonil)-1-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-pirrolidina-2,4-diona (etapa 1,3), y 2-hidrazinil-etanol. t_R : 0,80 min (CL-EM 1); ESI-MS: 439 / 441 [M+H]⁺ (CL-EM 1); RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 0,95 -1,15 (m, 4 H) 1,92 (s, 3 H) 1,95 -2,04 (m, 1 H) 3,35 (s, 3 H) 3,42 - 3,61 (m, 4 H) 3,79 - 3,89 (m, 1 H) 4,97 (t, J = 5,1 Hz, 1 H) 5,77 (s, 1 H) 6,18 (s, 1 H) 7,29 (d, J = 8,4 Hz, 2 H) 7,35 (d, J = 2,1 Hz, 1 H) 7,43 (d, J = 8,4 Hz, 2 H) 7,67 (d, J = 2,5 Hz, 1 H).

Ejemplo 4: 6-(4-clorofenil)-3-ciclopropil-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-(2-metoxi-etil)-5,6-dihidropirrolo-[3,4-c]-pirazol-4(1H)-ona



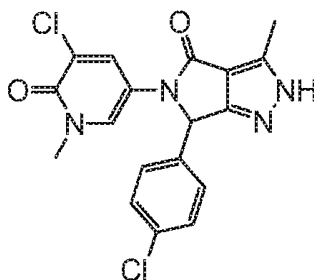
10 El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito en el Ejemplo 1, utilizando la 5-(4-clorofenil)-3-(ciclopropan-carbonil)-1-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-pirrolidina-2,4-diona (etapa 1,3), y (2-metoxi-etil)-hidrazina. t_R : 0,93 min (CL-EM 1); ESI-MS: 475 / 477 [M+H]⁺ (CL-EM 1); RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 0,91 -1,14 (m, 4 H) 1,92 (s, 3 H) 1,94 -2,04 (m, 1 H) 3,11 (s, 3 H) 3,35 (s, 3 H) 3,41 (t, J = 5,3 Hz, 2 H) 3,67 (dt, J = 14,4, 5,9 Hz, 1 H) 3,92 (dt, J = 14,4, 4,7 Hz, 1 H) 6,16 (s, 1 H) 7,29 (d, J = 8,3 Hz, 2 H) 7,34 (d, J = 1,9 Hz, 1 H) 7,43 (d, J = 8,4 Hz, 2 H) 7,66 (d, J = 2,5 Hz, 1 H).

Ejemplo 5: 6-(4-clorofenil)-3-ciclopropil-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-(1-metil-1H-pirazol-5-il)-5,6-dihidropirrolo-[3,4-c]-pirazol-4(1H)-ona



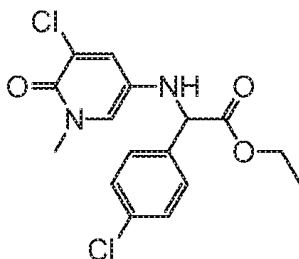
20 El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito en el Ejemplo 1, utilizando la 5-(4-clorofenil)-3-(ciclopropan-carbonil)-1-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-pirrolidina-2,4-diona (etapa 1,3), y 5-hidrazinil-1-metil-1H-pirazol. t_R : 0,93 min (CL-EM 1); ESI-MS: 475 / 477 [M+H]⁺ (CL-EM 1); RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1,03 -1,27 (m, 4 H) 1,93 (s, 3 H) 2,06 -2,16 (m, 1 H) 3,35 (s, 3 H) 3,49 (s, 3 H) 5,77 (s, 1 H) 6,07 (d, J = 2,1 Hz, 1 H) 6,37 (s, 1 H) 7,14 (d, J = 8,2 Hz, 2 H) 7,32 (d, J = 8,0 Hz, 2 H) 7,35 - 7,39 (m, 1 H) 7,44 (d, J = 2,0 Hz, 1 H) 7,66 (d, J = 2,5 Hz, 1 H).

Ejemplo 6: 5-(5-cloro-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-6-(4-clorofenil)-3-metil-5,6-dihidropirrolo-[3,4-c]-pirazol-4(2H)-ona



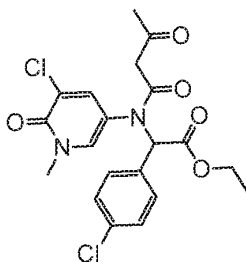
5 El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito en el Ejemplo 1, utilizando la 3-acetil-1-(5-cloro-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-5-(4-clorofenil)-pirrolidina-2,4-diona (etapa 6,3), e hidrato de hidrazina. $R_f = 0,26$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 19:1); t_R : 0,73 min (CL-EM 1); ESI-MS: 389 / 391 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (CL-EM 1); RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 2,53 (s, 3H) 3,47 (s, 3H) 5,77 (s, 1H), 6,37 (s, 1H) 7,36 (d, $J = 8,2$ Hz, 2 H) 7,43 (d, $J = 8,0$ Hz, 2 H) 8,00 (s, 2H).

Etapa 6,1: 2-((5-cloro-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-amino)-2-(4-clorofenil)-acetato de etilo



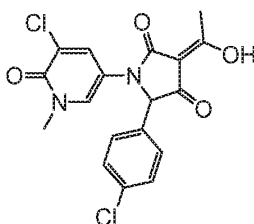
10 El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 utilizando 2-(4-clorofenil)-2-hidroxi-acetato de etilo y 5-amino-3-cloro-1-metil-piridin-2(1H)-ona. $R_f = 0,58$ (EtOAc/MeOH , 9:1); t_R : 0,96 min (CL-EM 1); ESI-MS: 353 / 355 $[\text{M}-\text{H}]^+$ (CL-EM 1); RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 1,21 (t, $J = 7,2$ Hz, 3 H) 3,07 (s, 1 H) 3,55 (s, 3 H) 4,28 (m, 3 H) 7,09 (d, $J = 2,7$ Hz, 1H) 7,34 - 7,40 (d, $J = 8,3$ Hz, 2 H) 7,43 (d, $J = 2,8$ Hz, 1 H) 7,65 - 7,71 (d, $J = 8,3$ Hz, 2 H).

Etapa 6,2: 2-(N-(5-cloro-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-3-oxo-butanamido)-2-(4-clorofenil)-acetato de etilo



15 El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito en el Ejemplo 1, utilizando el 2-((5-cloro-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-amino)-2-(4-clorofenil)-acetato de etilo (etapa 1,1), y 3-oxo-butanotioato de S-tercbutilo (etapa 1,5). $R_f = 0,46$ (hexano/acetona, 1:1); t_R : 0,94 min (CL-EM 1); ESI-MS: 439 / 441 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (CL-EM 1).

Etapa 6,3: 3-acetil-1-(5-cloro-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-5-(4-clorofenil)-pirrolidina-2,4-diona

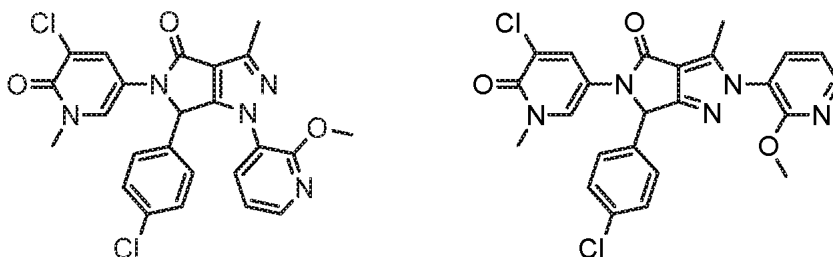


20 El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito en el Ejemplo 1, utilizando el 2-(N-(5-cloro-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-3-oxo-butanamido)-2-(4-clorofenil)-acetato de etilo (etapa 6,2). t_R : 0,65 min (CL-

EM 1); ESI-MS: 393 / 395 [M+H]⁺ (CL-EM 1); RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 2,44 (s, 3 H) 3,49 (s, 3 H) 4,96 (s, 1 H) 7,11 (d, J = 8,4 Hz, 2 H) 7,31 (d, J = 8,5 Hz, 2 H) 7,49 (d, J = 2,7 Hz, 1 H) 7,54 (d, J = 2,8 Hz, 1 H) 7,96 (s, 1 H).

Ejemplo 7a: 5-(5-cloro-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-6-(4-clorofenil)-1-(2-metoxipiridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrolo-[3,4-c]-pirazol-4(1H)-ona y

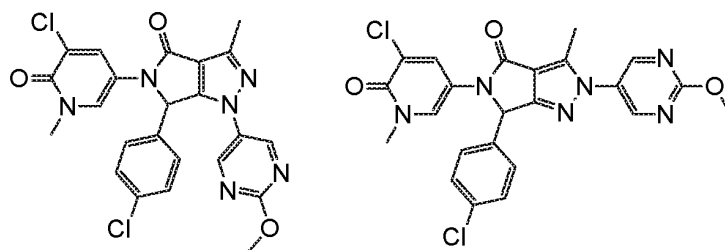
5 **Ejemplo 7b: 5-(5-cloro-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-6-(4-clorofenil)-2-(2-metoxipiridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrolo-[3,4-c]-pirazol-4(2H)-ona**



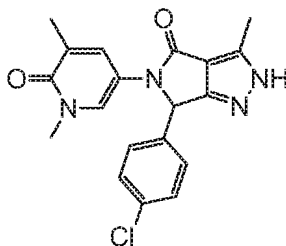
A una solución de la 5-(5-cloro-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-6-(4-clorofenil)-3-metil-5,6-dihidropirrolo-[3,4-c]-pirazol-4(2H)-ona (Ejemplo 6) (100 mg, 0,257 mmol) ácido (2-metoxi-pirimidin-5-il)-borónico (79 mg, 0,514 mmol), y piridina (0,042 ml, 0,514 mmol) en acetonitrilo (ACN) (2 ml), se le agregaron, bajo argón (Ar), Cu(OAc)₂ (93 mg, 0,514 mmol), y tamiz molecular (50 mg). La mezcla de reacción se agitó a 65 °C, y cada 0,5 h, se añadieron 2 equivalentes de ácido (2-metoxi-pirimidin-5-il)-borónico y 1 equivalente de piridina hasta que la reacción estuvo completa. La mezcla de reacción se añadió a agua helada, y el producto se extrajo con CH₂Cl₂. Los extractos combinados se lavaron con H₂O, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron, y se concentraron. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (hexano/EtOAc/MeOH, 80:20:2 a 0:100:10), para proporcionar una mezcla de los regioisómeros, la cual se separó mediante cromatografía de fluidos súper-críticos (SFC) (Sílice (250 x 30 mm, 5 μm), gradiente: del 17 al 22 % de B en 9 min, A: scCO₂, B: MeOH; flujo: 100 ml/minuto), para proporcionar el producto del título 7a (28 mg, 22 % de rendimiento), como un sólido blanco. t_R: 0,979 min (UPLC 1); t_R: 0,97 min (CL-EM 1); ESI-MS: 496 / 498 [M+H]⁺ (CL-EM 1); RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 2,44 (s, 3 H) 3,45 (s, 3 H) 3,96 (s, 3 H) 6,28 (s, 1 H) 7,00 - 7,07 (m, 3 H) 7,23 (d, J = 8,4 Hz, 2 H) 7,77 (dd, J = 7,7, 1,7 Hz, 1 H) 7,90 - 7,95 (m, 2 H) 8,15 (dd, J = 5,0, 1,7 Hz, 1 H), y 7b (9 mg, 7 % de rendimiento), como un sólido amarillo claro. t_R: 0,980 min (UPLC 1); t_R: 0,96 min (CL-EM 1); ESI-MS: 496 / 498 [M+H]⁺ (CL-EM 1); RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 2,30 (s, 3 H) 3,47 (s, 3 H) 3,91 (s, 3 H) 6,35 (s, 1 H) 7,20 (dd, J = 7,6, 5,0 Hz, 1 H) 7,35 (d, J = 9,4 Hz, 2 H) 7,42 (d, J = 9,4 Hz, 2 H) 7,90 (dd, J = 7,6, 1,7 Hz, 1 H) 7,97 - 8,02 (m, 2 H) 8,00 (s, 2 H) 8,37 (dd, J = 5,0, 1,7 Hz, 1 H).

Ejemplo 8a: 5-(5-cloro-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-6-(4-clorofenil)-1-(2-metoxi-pirimidin-5-il)-3-metil-5,6-dihidropirrolo-[3,4-c]-pirazol-4(1H)-ona, y

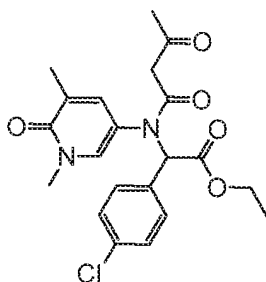
Ejemplo 8b: 5-(5-cloro-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-6-(4-clorofenil)-2-(2-metoxi-pirimidin-5-il)-3-metil-5,6-dihidropirrolo-[3,4-c]-pirazol-4(2H)-ona



Los compuestos del título se prepararon en analogía al procedimiento descrito en los Ejemplos 7a y 7b, utilizando la 5-(5-cloro-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-6-(4-clorofenil)-3-metil-5,6-dihidropirrolo-[3,4-c]-pirazol-4(2H)-ona (Ejemplo 6), y ácido (2-metoxi-pirimidin-5-il)-borónico. La mezcla de regioisómeros se separó mediante SFC (Sílice (250 x 30 mm, 5 μm), gradiente: del 21 al 26 % de B en 11 min, A: scCO₂, B: MeOH; flujo: 100 ml/minuto), para proporcionar el producto del título 8a (19 mg, 15 % de rendimiento), como un sólido blanco. t_R: 0,916 min (UPLC 1); t_R: 0,91 min (CL-EM 1); ESI-MS: 497 / 499 [M+H]⁺ (CL-EM 1); RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 2,46 (s, 3 H) 3,46 (s, 3 H) 3,93 (s, 3 H) 6,78 (s, 1 H) 7,28 (d, J = 8,3 Hz, 2 H) 7,36 (d, J = 8,3 Hz, 2 H) 7,85 (s, 2 H) 8,75 (s, 2 H), y 7b (41 mg, 32 % de rendimiento), como un sólido blanco. t_R: 0,897 min (UPLC 1); t_R: 0,89 min (CL-EM 1); ESI-MS: 497 / 499 [M+H]⁺ (CL-EM 1); RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 2,53 (s, 3 H) 3,47 (s, 3 H) 4,00 (s, 3 H) 6,37 (s, 1 H) 7,36 (d, J = 8,8 Hz, 2 H) 7,43 (d, J = 8,8 Hz, 2 H) 7,99 - 8,01 (m, 2 H) 8,88 (s, 2 H).

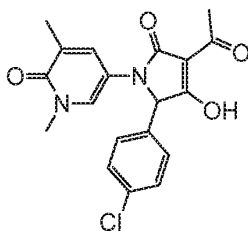
Ejemplo 9: 6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrolo-[3,4-c]-pirazol-4(2H)-ona

5 El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito en el Ejemplo 1, utilizando la 3-acetil-5-(4-clorofenil)-1-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-pirrolidina-2,4-diona (etapa 9,2), e hidrato de hidrazina. $R_f = 0,33$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 19:1); t_R : 0,69 min (CL-EM 1); ESI-MS: 369 / 371 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (CL-EM 1); RMN ^1H (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,91 -1,96 (m, 3 H) 2,42 (s, 3 H) 3,31 (s., 1 H) 6,15 (s, 1 H) 7,25 (d, J = 8,4 Hz, 2 H) 7,38 (d, J = 8,4 Hz, 2 H) 7,43 (s. a., 1 H) 7,71 (d, J = 2,4 Hz, 1 H) 13,19 (s, 1 H).

Etapa 9,1: 2-(4-clorofenil)-2-(N-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-3-oxo-butanamido)-acetato de etilo

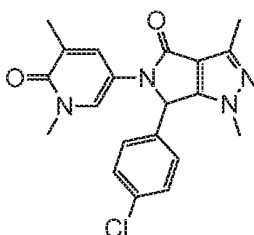
10

El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito en el Ejemplo 1, utilizando el 2-(4-clorofenil)-2-((1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-amino)-acetato de etilo (etapa 1,1), y 3-oxo-butanotioato de S-tercbutilo. $R_f = 0,33$ (hexano/ acetona, 1:1); t_R : 0,89 min (CL-EM 1); ESI-MS: 417 / 419 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (CL-EM 1).

Etapa 9,2: 2-(4-clorofenil)-2-(N-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-3-oxo-butanamido)-acetato de etilo

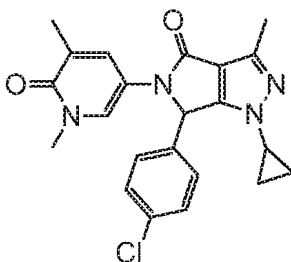
15

El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito en el Ejemplo 1, utilizando el 2-(4-clorofenil)-2-(N-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-3-oxo-butanamido)-acetato de etilo (etapa 9,1). t_R : 0,65 min (CL-EM 1); ESI-MS: 373 / 375 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (CL-EM 1); RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 2,02 (s, 3 H) 2,40 -2,45 (m, 3 H) 3,43 (s, 3 H) 4,98 (s, 1 H) 7,12 (d, J = 9,0 Hz, 2 H) 7,29 (d, J = 9,0 Hz, 2 H) 7,40 - 7,44 (m, 2 H) 7,95 (s, 1 H).

20 Ejemplo 10: 6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1,3-dimetil-5,6-dihidropirrolo-[3,4-c]-pirazol-4(1H)-ona

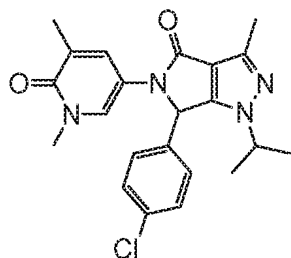
El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito en el Ejemplo 1, utilizando la 3-acetil-5-(4-clorofenil)-1-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-pirrolidina-2,4-diona (etapa 9,2), y metil-hidrazina. $R_f = 0,33$ (EtOAc/MeOH, 4:1); $t_R = 0,77$ min (CL-EM 1); ESI-MS: 383 / 385 $[M+H]^+$ (CL-EM 1); RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,93 (s, 3 H) 2,30 (s, 3 H) 3,36 (s, 3 H) 3,46 (s, 3 H) 6,25 (s, 1 H) 7,25 - 7,36 (m, 3 H) 7,44 (d, $J = 8,4$ Hz, 2 H) 7,64 (d, $J = 2,7$ Hz, 1 H).

Ejemplo 11: 6-(4-clorofenil)-1-ciclopropil-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrololo-[3,4-c]-pirazol-4(1H)-ona



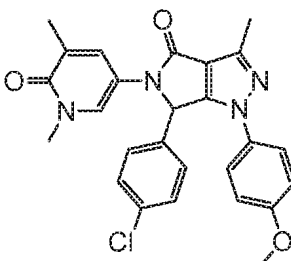
El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito en el Ejemplo 13, utilizando la 3-acetil-5-(4-clorofenil)-1-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-pirrolidina-2,4-diona (etapa 9,2), y clorhidrato de ciclopropil-hidrazina. $R_f = 0,26$ (EtOAc/MeOH, 9:1); $t_R = 0,86$ min (CL-EM 1); ESI-MS: 409 / 411 $[M+H]^+$ (CL-EM 1); RMN 1H (600 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0,57 - 0,83 (m, 3 H) 1,10 (m., 1 H) 1,92 (s, 3 H) 2,28 (s, 3 H) 3,11 (m, 1H) 3,35 (s, 3 H) 6,31 (s, 1 H) 7,32 (d, $J = 8,0$ Hz, 2 H) 7,37 (s. a., 1 H) 7,41 (d, $J = 8,0$ Hz, 2 H) 7,64 (s. a., 1 H).

Ejemplo 12: 6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-isopropil-3-metil-5,6-dihidropirrololo-[3,4-c]-pirazol-4(1H)-ona



El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito en el Ejemplo 1, utilizando la 3-acetil-5-(4-clorofenil)-1-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-pirrolidina-2,4-diona (etapa 9,2) e isopropil-hidrazina. $R_f = 0,35$ (EtOAc/MeOH, 9:1); $t_R = 0,91$ min (CL-EM 1); ESI-MS: 411 / 413 $[M+H]^+$ (CL-EM 1); RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,01 (d, $J = 6,7$ Hz, 4 H) 1,21 (d, $J = 6,6$ Hz, 4 H) 1,93 (s, 3 H) 2,32 (s, 3 H) 3,36 (s, 3 H) 4,03 - 4,14 (m, 1 H) 6,30 (s, 1 H) 7,31 (d, $J = 8,5$ Hz, 2 H) 7,35 (d, $J = 1,6$ Hz, 1 H) 7,44 (d, $J = 8,4$ Hz, 2 H) 7,64 (d, $J = 2,69$ Hz, 1 H).

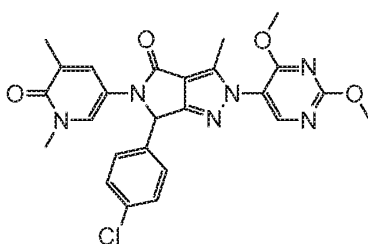
Ejemplo 13: 6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-(4-metoxifenil)-3-metil-5,6-dihidropirrololo-[3,4-c]-pirazol-4(1H)-ona



A una solución de clorhidrato de (4-metoxifenil)-hidrazina (141 mg, 0,805 mmol), y NEt_3 (0,110 ml, 0,789 mili-moles) en EtOH (8 ml), se añadió la 3-acetil-5-(4-clorofenil)-1-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-pirrolidina-2,4-diona (etapa 9,2) (300 mg, 0,805 mmol), y la mezcla de reacción se agitó durante 4 h a temperatura ambiente. A la mezcla de reacción se le agregaron AcOH (4 ml), y ácido sulfámico (117 mg, 1,21 mmol), y la mezcla se calentó en el reactor de microondas (MW) durante 2 h a 100 °C, y durante 2 h a 120 °C. La mezcla de reacción se concentró, y el residuo se disolvió en $NaHCO_3$ saturado y se extrajo con EtOAc. Los extractos combinados se lavaron con

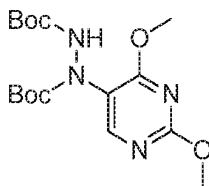
- salmuera, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron, y se concentraron. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (hexano/EtOAc/MeOH, 50:50:5 a 0:100:10), para proporcionar el producto del título (288 mg, 75 % de rendimiento) como una espuma amarilla. R_f = 0,45 (EtOAc/MeOH, 9:1); t_R: 1,015 min (UPLC 1); t_R: 0,99 min (CL-EM 1); ESI-MS: 475 / 477 [M+H]⁺ (CL-EM 1); ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1,95 (s, 3 H) 2,43 (s, 3 H) 3,37 (s, 3 H) 3,75 (s, 3 H) 6,71 (s, 1 H) 6,93 (d, J = 8,5 Hz, 2 H) 7,21 (d, J = 8,6 Hz, 2 H) 7,30 (d, J = 8,2 Hz, 2 H) 7,37 (d, J = 1,5 Hz, 1 H) 7,45 (d, J = 7,9 Hz, 2 H) 7,63 (d, J = 2,6 Hz, 1 H).

Ejemplo 14: 6-(4-clorofenil)-2-(2,4-dimetoxi-pirimidin-5-il)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(2H)-ona



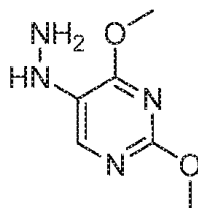
- 10 El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito en el Ejemplo 13, utilizando la 3-acetil-5-(4-clorofenil)-1-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-pirrolidina-2,4-diona (etapa 9,2), y la 5-hidrazinil-2,4-dimetoxi-pirimidina (etapa 14,2). R_f = 0,61 (CH₂Cl₂/MeOH, 9:1); t_R: 0,88 min (CL-EM 1); ESI-MS: 507 / 509 [M+H]⁺ (CL-EM 1); RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1,93 (s, 3 H) 2,41 (s, 3 H) 3,36 (s, 3 H) 3,84 (s, 3 H) 3,91 (s, 3 H) 6,23 (s, 1 H) 7,06 (d, J = 8,4 Hz, 2 H) 7,30 (d, J = 8,4 Hz, 2 H) 7,37 - 7,42 (m, 1 H) 7,66 - 7,73 (m, 1 H) 8,35 (s, 1 H).

- 15 Etapa 14,1: 1-(2,4-dimetoxi-pirimidin-5-il)-hidrazina-1,2-dicarboxilato de ditercbutilo



- A una solución agitada de 5-bromo-2,4-dimetoxi-pirimidina (400 gramos, 1,826 moles) en tetrahidrofurano (THF) anhidro (3 litros), bajo argón (Ar), y enfriada hasta 0 °C, se añadió por goteo TurboGrignard (1,821 litros, 2,37 moles). La mezcla resultante se agitó a 0 °C hasta que cesó la exotérmica, entonces se dejó calentar y agitar a temperatura ambiente durante 30 min. Se añadió por goteo a la mezcla una solución de azodicarboxilato de ditercbutilo en tetrahidrofurano (THF) anhidro (1 litro), y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La reacción se apagó lentamente con una solución acuosa saturada de NH₄Cl, se diluyó con EtOAc y agua. La fase acuosa se extrajo con EtOAc, los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron, y se concentraron. El aceite amarillo resultante se disolvió en hexano, y la suspensión se agitó a 0 °C durante 3 h. El precipitado se filtró y se secó, para proporcionar un primer lote de cristales blancos. El licor madre se concentró y se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice, para proporcionar un segundo lote de cristales blancos. Los dos lotes se combinaron para proporcionar el producto del título (507 gramos, 1,369 moles, 75 % de rendimiento) como cristales blancos. t_R: 1,03 min (CL-EM 1); ESI-MS: 371 [M+H]⁺, ESI-MS: 369 [M-H]⁻(CL-EM 1).

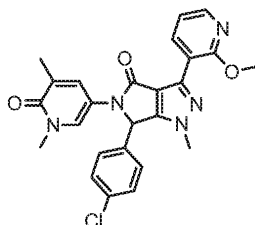
- 30 Etapa 14,2: 5-hidrazinil-2,4-dimetoxi-pirimidina



- A una solución del 1-(2,4-dimetoxi-pirimidin-5-il)-hidrazina-1,2-dicarboxilato de ditercbutilo (etapa 14,1) (453 gramos, 1,223 moles) en metanol (MeOH) (2,5 litros), se añadió, a 0 °C, HCl 4 N en dioxano (2,5 litros, 10 moles), y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se concentró, y el residuo se absorbió en NH₃ 4N (2 litros), se agitó durante 1 h, y se evaporó nuevamente. El residuo seco se suspendió en CH₂Cl₂ (2 litros), las sales se filtraron, y el filtrado se concentró. El producto bruto se agitó con Et₂O (2 litros) a 0 °C

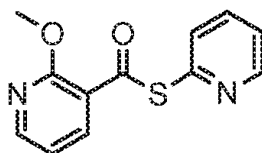
durante 30 min, la suspensión resultante se filtró nuevamente, y el filtrado se concentró, para proporcionar el producto del título (150 gramos, 864 mmol, 70 % de rendimiento) como un sólido color beige claro. t_R : 0,32 min (CL-EM 1); ESI-MS: 171,1 [M+H]⁺ (CL-EM 1).

Ejemplo 15: 6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-3-(2-metoxipiridin-3-il)-1-metil-5,6-dihidropirrolo-[3,4-c]-pirazol-4(1H)-ona



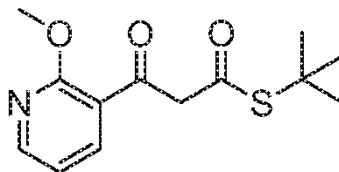
El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito en el Ejemplo 1, utilizando la 5-(4-clorofenil)-1-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-3-(2-metoxi-nicotinoil)-pirrolidina-2,4-diona (etapa 15,4), y metilhidrazina. t_R : 0,89 min (CL-EM 1); ESI-MS: 476 / 478 [M+H]⁺ (CL-EM 1); RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1,94 (s, 3 H) 3,37 (s, 3 H) 3,59 (s, 3 H) 3,92 (s, 3 H) 6,36 (s, 1 H) 7,12 (dd, J = 7,4, 4,9 Hz, 1 H) 7,33 - 7,41 (m, 3 H) 7,47 (d, J = 8,7 Hz, 2 H) 7,69 (d, J = 2,7 Hz, 1 H) 8,24 (dd, J = 4,9, 1,8 Hz, 1 H) 8,32 (dd, J = 7,4, 1,9 Hz, 1 H).

Etapa 15,1: 2-metoxipiridin-3-carbotioato de S-piridin-2-ilo



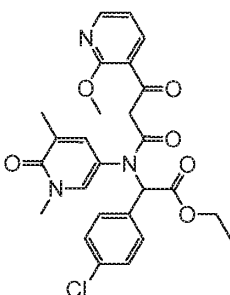
A una solución de ácido 2-metoxi-nicotínico (4,59 gramos, 30 mmol), y 1,2-di-(piridin-2-il)-disulfano (6,74 gramos, 30 mili-moles) en tetrahidrofurano (THF) (60 ml), se añadió, bajo argón (Ar), trifenil-fosfina, y la mezcla de reacción se agitó durante 6 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró, y el aceite residual se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (hexano/EtOAc, 80:20 a 50:50), para proporcionar el producto del título (6,6 gramos, 74 % de rendimiento), como un sólido blanco. R_f = 0,36 (hexano/EtOAc, 1:1); t_R : 0,803 min (UPLC 1); t_R : 0,87 min (CL-EM 1); ESI-MS: 247 [M+H]⁺ (CL-EM 1); RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 4,05 (s, 3 H) 6,95 (dd, J = 7,58, 4,89 Hz, 1 H) 7,26 (ddd, J = 7,3, 4,9, 1,1 Hz, 1 H) 7,66 (d, J = 8,6 Hz, 1 H) 7,7 (td, J = 7,8, 1,8 Hz, 1 H) 8,12 (dd, J = 7,6, 2,0 Hz, 1 H) 8,29 (dd, J = 4,9, 1,8 Hz, 1 H) 8,58 - 8,64 (m, 1 H).

Etapa 15,2: 3-(2-metoxipiridin-3-il)-3-oxo-propanotioato de S-tercbutilo



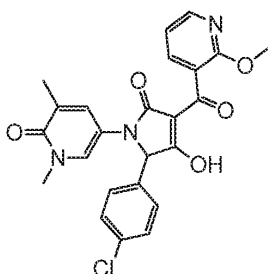
A una solución de 2-metoxipiridin-3-carbotioato de S-piridin-2-ilo (1,11 gramos, 4,5 mmol) en tetrahidrofurano (THF) (30 ml), se añadió, bajo argón (Ar), una solución 1M de LiHMDS en tetrahidrofurano (THF) (13,5 ml, 15,5 mmol) por debajo de -70 °C. A esta solución se añadió una solución de etanotioato de S-tercbutilo en tetrahidrofurano (THF) (3 ml) a -78 °C. Después de agitar durante 15 min a -78 °C, la mezcla de reacción se vertió sobre HCl acuoso 1N y el producto se extrajo con EtOAc. Los extractos combinados se lavaron con una solución saturada de NaHCO₃ y salmuera, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron, y se concentraron. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (hexano/EtOAc/MeOH, 50:50:5 a 0:100:10), para proporcionar el producto del título (288 mg, 75 % de rendimiento), como un aceite incoloro. R_f = 0,45 (EtOAc/MeOH, 9:1); t_R : 1,221 min (UPLC 1); t_R : 1,14 min (CL-EM 1); ESI-MS: 268 [M+H]⁺ (CL-EM 1); RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 1,41 (s, 3,5 H) 1,47 - 1,51 (m, 5,5 H) 3,38 y 3,98 (s, 3 H) 4,10 (s, 1,2 H) 6,43 - 6,49 (m, 0,4 H) 6,87 - 6,97 (m, 1 H) 8,09 - 8,29 (m, 2 H) 13,38 (s, 0,4 H).

Etapa 15,3: 2-(4-clorofenil)-2-(N-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-3-(2-metoxipiridin-3-il)-3-oxo-propanamido)-acetato de etilo



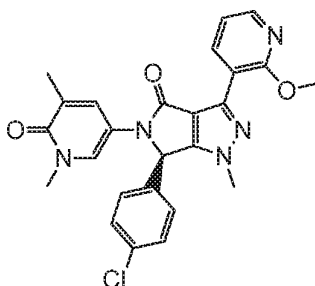
5 El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito en el Ejemplo 1, utilizando el 3-(2-metoxipiridin-3-il)-3-oxo-propanoato de S-tercbutilo (etapa 15,2), y 2-(4-clorofenil)-2-((1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-amino)-acetato (etapa 1,1). $R_f = 0,42$ (EtOAc); $t_R = 1,00$ min y $1,22$ min (CL-EM 1); ESI-MS: 512 / 514 $[M+H]^+$ (CL-EM 1).

Etapa 15.4: 5-(4-clorofenil)-1-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-3-(2-metoxi-nicotinoil)-pirrolidina-2,4-diona



10 El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito en el Ejemplo 1, etapa 13, utilizando el 2-(4-clorofenil)-2-(N-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-3-(2-metoxipiridin-3-il)-3-oxo-propanamido)-acetato de etilo (etapa 15,3). $t_R = 0,60$ min (CL-EM 1); ESI-MS: 466 / 468 $[M+H]^+$ (CL-EM 1).

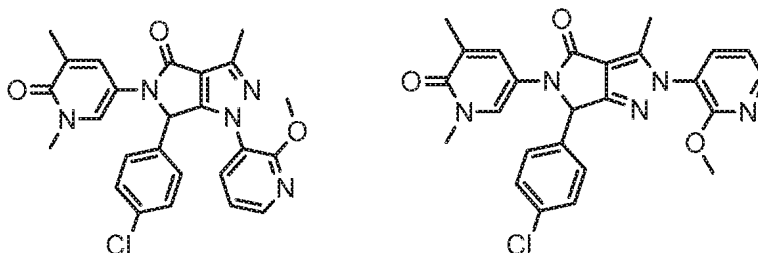
Ejemplo 16: (R)-6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-3-(2-metoxipiridin-3-il)-1-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(1H)-ona



15 El compuesto del título (159 mg, 35 % de rendimiento) se obtuvo enantioméricamente puro (98 % de ee), como un sólido blanco después de la cromatografía de preparación quiral (sistema: SFC-PicLab-Prep 100; columna: Chiralpak AD-H, 50 x 250 mm; fase móvil: $scCO_2$ / metanol (MeOH), 40:60 (isocrática); flujo: 80 gramos/minuto; detección UV: 245 nm) de la mezcla racémica de la 6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-3-(2-metoxipiridin-3-il)-1-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(1H)-ona (Ejemplo 15) (450 mg, 0,927 mmol), y la trituration del residuo resultante en Et_2O . $t_R = 0,89$ min (CL-EM 1); ESI-MS: 476 / 478 $[M+H]^+$ (CL-EM 1); RMN 1H (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ ppm 1,94 (s, 3 H) 3,37 (s, 3 H) 3,59 (s, 3 H) 3,92 (s, 3 H) 6,36 (s, 1 H) 7,12 (dd, J = 7,4, 4,9 Hz, 1 H) 7,33 - 7,41 (m, 3 H) 7,47 (d, J = 8,7 Hz, 2 H) 7,69 (d, J = 2,7 Hz, 1 H) 8,24 (dd, J = 4,9, 1,8 Hz, 1 H) 8,32 (dd, J = 7,4, 1,9 Hz, 1 H). El segundo enantiómero, (S)-6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-3-(2-metoxipiridin-3-il)-1-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(1H)-ona, se obtuvo por medio de la misma separación, enantioméricamente puro (98 % de ee), como un sólido blanco (177 mg, rendimiento del 39 %).

25 **Ejemplo 17a: 6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-(2-metoxipiridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(1H)-ona, y**

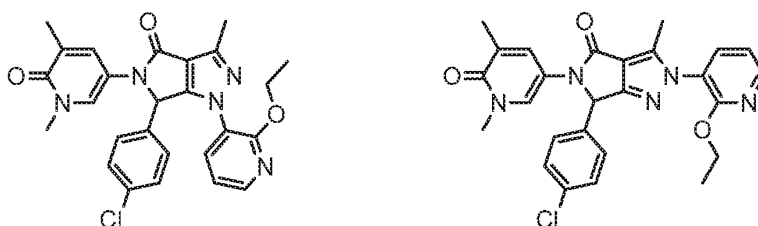
Ejemplo 17b: 6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-2-(2-metoxipiridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(2H)-ona



Los compuestos del título 17a y 17b se prepararon en analogía al procedimiento descrito en el Ejemplo 7a, utilizando la 5-(5-cloro-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-6-(4-clorofenil)-3-metil-5,6-dihidropirrolo-[3,4-c]-pirazol-4(2H)-ona (Ejemplo 6), y ácido (2-metoxipiridin-3-il)-borónico. La mezcla de regioisómeros se separó mediante cromatografía de fluidos súper-críticos (SFC) (Sílice (250 x 30 mm, 5 μ m), isocrática, 7 % de B en 60 min, A: scCO₂, B: MeOH; flujo: 100 ml/minuto), para proporcionar el producto del título 17a como un sólido blanco. R_f = 0,44 (EtOAc/ MeOH, 9:1); t_R : 0,927 min (UPLC 1); t_R : 0,93 min (CL-EM 1); ESI-MS: 476 / 478 [M+H]⁺ (CL-EM 1); RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1,93 (s, 3 H) 2,43 (s, 3 H) 3,37 (s, 3 H) 3,96 (s, 3 H) 6,22 (s, 1 H) 6,98 - 7,06 (m, 3 H) 7,23 (d, J = 8,1 Hz, 2 H) 7,36 - 7,40 (m, 1 H) 7,71 (d, J = 2,7 Hz, 1 H) 7,77 (dd, J = 7,7, 1,7 Hz, 1 H) 8,14 (dd, J = 4,9, 1,7 Hz, 1 H), y el 17b como un sólido blanco. R_f = 0,44 (EtOAc/ MeOH, 9:1); t_R : 0,927 min (UPLC 1); t_R : 0,93 min (CL-EM 1); ESI-MS: 476 / 478 [M+H]⁺ (CL-EM 1); RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1,96 (s, 3 H) 2,30 (s, 3 H) 3,39 (s, 3 H) 3,91 (s, 3 H) 6,30 (s, 1 H) 7,20 (dd, J = 7,6, 5,0 Hz, 1 H) 7,32 (d, J = 8,8 Hz, 2 H) 7,41 (d, J = 9,1 Hz, 2 H) 7,48 (m, 1 H) 7,77 (d, J = 2,7 Hz, 1 H) 7,89 (dd, J = 7,6, 1,7 Hz, 1 H) 8,37 (dd, J = 4,9, 1,8 Hz, 1 H).

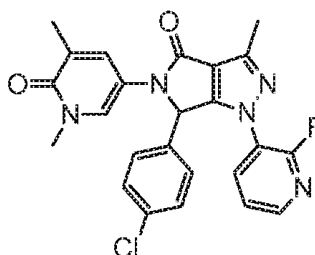
Ejemplo 18a: 6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-(2-etoxi-piridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrolo-[3,4-c]-pirazol-4(1H)-ona, y

Ejemplo 18b: 6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-2-(2-etoxi-piridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrolo-[3,4-c]-pirazol-4(2H)-ona



Los compuestos del título 18a y 18b se prepararon en analogía al procedimiento descrito en el Ejemplo 7, utilizando la 5-(5-cloro-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-6-(4-clorofenil)-3-metil-5,6-dihidropirrolo-[3,4-c]-pirazol-4(2H)-ona (Ejemplo 6), y ácido (2-etoxi-piridin-3-il)-borónico. La mezcla de regioisómeros se separó mediante cromatografía de fluidos súper-críticos (SFC) (Sílice (250 x 30 mm, 5 μ m), gradiente del 18 al 23 % de B en 11 min, A: scCO₂, B: MeOH; flujo: 100 ml/minuto), para proporcionar el producto del título 18a como un sólido blanco. R_f = 0,49 (EtOAc/MeOH, 9:1); t_R : 0,992 min (UPLC 1); t_R : 0,99 min (CL-EM 1); ESI-MS: 490 / 492 [M+H]⁺ (CL-EM 1); RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1,32 (t, J = 8,1 Hz, 3H) 1,92 (s, 3 H) 2,42 (s, 3 H) 3,36 (s, 3 H) 4,36 (m, 1H) 4,43 (m, 1 H) 6,13 (s, 1 H) 6,96 - 7,06 (m, 3 H) 7,20 (d, J = 8,1 Hz, 2 H) 7,33 (m, 1 H) 7,66 (d, J = 2,7 Hz, 1 H) 7,71 (dd, J = 7,7, 1,7 Hz, 1 H) 8,13 (m, 1 H), y 18b como un sólido blanco. R_f = 0,46 (EtOAc/MeOH, 9:1); t_R : 1,006 min (UPLC 1); t_R : 0,99 min (CL-EM 1); ESI-MS: 490 / 492 [M+H]⁺ (CL-EM 1); RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1,24 (t, J = 8,1 Hz, 3H) 1,95 (s, 3 H) 2,31 (s, 3 H) 3,38 (s, 3 H) 4,37 (q, J = 8,1 Hz, 2H) 6,29 (s, 1 H) 7,16 (m, 1 H) 7,32 (d, J = 8,1 Hz, 2 H) 7,39 (d, J = 8,1 Hz, 2 H) 7,47 (m, 1 H) 7,76 (m, 1 H) 7,85 (m, 1 H) 8,33 (m, 1 H).

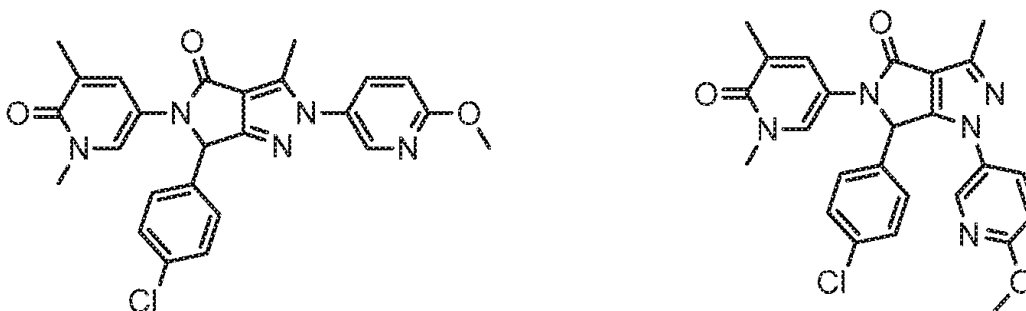
Ejemplo 19: 6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-(2-fluoro-piridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrolo-[3,4-c]-pirazol-4(1H)-ona



El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito en el Ejemplo 7, utilizando la 5-(5-cloro-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-6-(4-clorofenil)-3-metil-5,6-dihidropirrolo-[3,4-c]-pirazol-4(2H)-ona (Ejemplo 6), y ácido (2-fluoro-piridin-3-il)-borónico. $R_f = 0,54$ (EtOAc/MeOH, 19:1); t_R : 0,886 min (UPLC 1); t_R : 0,89 min (CL-EM 1); ESI-MS: 464 / 466 $[M+H]^+$ (CL-EM 1); RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,93 (s, 3 H) 2,45 (s, 3 H) 3,35 (s, 3 H) 6,44 (s, 1 H) 7,13 (d, $J = 8,1$ Hz, 2 H) 7,24 (d, $J = 8,1$ Hz, 2 H) 7,41 (m, 1 H) 7,46 (dd, $J = 7,7, 1,7$ Hz, 1 H) 7,73 (m, 1H) 8,09 (m, 1 H) 8,21 (m, 1H).

Ejemplo 20a: 6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-2-(6-metoxipiridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrolo-[3,4-c]-pirazol-4(2H)-ona, y

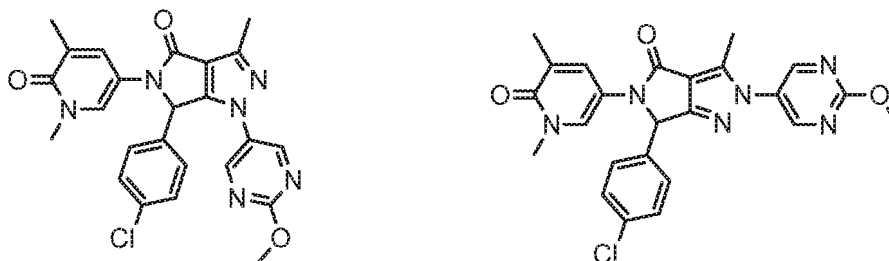
Ejemplo 20b: 6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-(6-metoxipiridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrolo-[3,4-c]-pirazol-4(1H)-ona



Los compuestos del título 20a y 20b se prepararon en analogía al procedimiento descrito en el Ejemplo 7, utilizando la 5-(5-cloro-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-6-(4-clorofenil)-3-metil-5,6-dihidropirrolo-[3,4-c]-pirazol-4(2H)-ona (Ejemplo 6), y ácido (6-metoxipiridin-3-il)-borónico. La mezcla de regioisómeros se separó mediante cromatografía de fluidos súper-críticos (SFC) (DEAP (250 x 30 mm, 5 μ m), gradiente del 7 al 12 % de B en 11 min, A: $scCO_2$, B: MeOH; flujo: 100 ml/minuto), para proporcionar el producto del título 20a como un sólido blanco. t_R : 0,957 min (UPLC 1); t_R : 0,95 min (CL-EM 1); ESI-MS: 476 / 478 $[M+H]^+$ (CL-EM 1); RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,96 (s, 3 H) 2,48 (s, 3 H) 3,39 (s, 3 H) 3,92 (s, 3 H) 6,31 (s, 1 H) 7,00 (d, $J = 8,8$ Hz, 1 H) 7,33 (d, $J = 8,9$ Hz, 2 H) 7,41 (d, $J = 9,1$ Hz, 2 H) 7,47 (d, $J = 1,6$ Hz, 1 H) 7,77 (d, $J = 2,7$ Hz, 1 H) 7,92 (dd, $J = 8,9, 2,7$ Hz, 1 H) 8,40 (d, $J = 2,7$ Hz, 1 H), y 20b como un sólido blanco. t_R : 0,967 min (UPLC 1); t_R : 0,96 min (CL-EM 1); ESI-MS: 476 / 478 $[M+H]^+$ (CL-EM 1); RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,95 (s, 3 H) 2,44 (s, 3 H) 3,37 (s, 3 H) 3,85 (s, 3 H) 6,73 (s, 1 H) 6,88 (d, $J = 8,8$ Hz, 1 H) 7,22 (d, $J = 8,1$ Hz, 2 H) 7,32 (d, $J = 8,4$ Hz, 2 H) 7,36 (d, $J = 1,6$ Hz, 1 H) 7,6 (d, $J = 2,7$ Hz, 1 H) 7,88 (dd, $J = 8,9, 2,8$ Hz, 1 H) 8,32 (d, $J = 2,7$ Hz, 1 H).

Ejemplo 21a: 6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-(2-metoxi-pirimidin-5-il)-3-metil-5,6-dihidropirrolo-[3,4-c]-pirazol-4(1H)-ona y

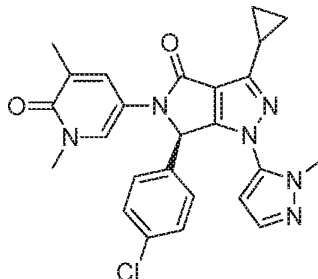
Ejemplo 21b: 6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-2-(2-metoxi-pirimidin-5-il)-3-metil-5,6-dihidropirrolo-[3,4-c]-pirazol-4(2H)-ona



Los compuestos del título 21a y 21b se prepararon en analogía al procedimiento descrito en el Ejemplo 7, utilizando la 5-(5-cloro-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-6-(4-clorofenil)-3-metil-5,6-dihidropirrolo-[3,4-c]-pirazol-4(2H)-ona (Ejemplo 6), y ácido (2-metoxi-pirimidin-5-il)-borónico. La mezcla de regioisómeros se separó mediante cromatografía de fluidos súper-críticos (SFC) (DEAP (250 x 30 mm, 5 μ m), gradiente del 8 al 13 % de B en 11 min, A: $scCO_2$, B: MeOH; flujo: 100 ml/minuto), para proporcionar el producto del título 20a como un sólido blanco. t_R : 1,008 min (UPLC 1); t_R : 0,87 min (CL-EM 1); ESI-MS: 477 / 479 $[M+H]^+$ (CL-EM 1); RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,95 (s, 3 H) 2,46 (s, 3 H) 3,37 (s, 3 H) 3,92 (s, 3 H) 6,74 (s, 1 H) 7,25 (d, $J = 8,4$ Hz, 2 H) 7,32 - 7,38 (m, 3 H) 7,59 - 7,63 (m, 1 H) 7,62 (d, $J = 2,7$ Hz, 1 H) 8,76 (s, 2 H), y el 20b como un sólido blanco. t_R : 0,976 min (UPLC 1); t_R : 0,86 min (CL-EM 1); ESI-MS: 477 / 479 $[M+H]^+$ (CL-EM 1); RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,91 (s, 3H) 2,46 (s, 3H) 3,32 (s, 3 H) 3,96 (s, 3 H) 6,27 (s, 1 H) 7,29 (d, $J = 8,8$ Hz, 2 H) 7,36

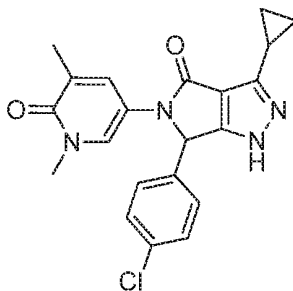
(d, $J = 8,8$ Hz, 2 H) 7,42 (s, 1 H) 7,72 (s, 1H) 8,63 (s, 2 H).

Ejemplo 22: (R)-6-(4-clorofenil)-3-ciclopropil-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-(1-metil-1H-pirazol-5-il)-5,6-dihidropirrolo-[3,4-c]-pirazol-4(1H)-ona



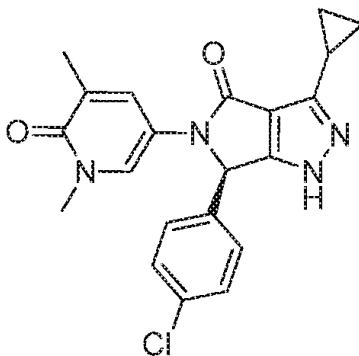
- 5 Se obtuvo el compuesto del título enantioméricamente puro (>98 % de ee) después de la cromatografía de preparación quiral (sistema: Thar SFC200; columna: Chiralpak AD-H 50 x 250 mm; fase móvil: $scCO_2$ /IPA 75:25 (isocrática), flujo: 200 g/min) de la mezcla racémica de la 6-(4-clorofenil)-3-ciclopropil-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-(1-metil-1H-pirazol-5-il)-5,6-dihidropirrolo-[3,4-c]-pirazol-4(1H)-ona (Ejemplo 5).
- 10 (S)-6-(4-clorofenil)-3-ciclopropil-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-(1-metil-1H-pirazol-5-il)-5,6-dihidropirrolo-[3,4-c]-pirazol-4(1H)-ona, t_R : 1,55 min (sistema: Thar/Waters SFC Investigator MS; columna: Chiralpak AD-H, 4,6 x 250 mm; fase móvil: $scCO_2$ /isopropanol, 70:30 (isocrática), flujo: 4 ml/minuto; detección UV: 215 nm).
- (R)-6-(4-clorofenil)-3-ciclopropil-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-(1-metil-1H-pirazol-5-il)-5,6-dihidropirrolo-[3,4-c]-pirazol-4(1H)-ona, t_R : 2,36 min (sistema: Thar/Waters SFC Investigator MS; columna: Chiralpak AD-H, 4,6 x 250 mm; fase móvil: $scCO_2$ /isopropanol, 70:30 (isocrática), flujo: 4 ml/minuto; detección UV: 215 nm).

15 **Ejemplo 23: 6-(4-clorofenil)-3-ciclopropil-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-5,6-dihidropirrolo-[3,4-c]-pirazol-4(1H)-ona**



- El compuesto del título se preparó en analogía al procedimiento descrito en el Ejemplo 1, utilizando la 5-(4-clorofenil)-3-(ciclopropan-carbonil)-1-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-pirrolidina-2,4-diona (etapa 1,3), e hidrazina. t_R : 0,81 min (CL-EM 1); ESI-MS: 395 / 397 $[M+H]^+$ (CL-EM 1); RMN 1H (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ ppm 13,29 (s, 1 H), 7,69 (d, $J = 2,8$ Hz, 1 H), 7,44 - 7,33 (m, 3 H), 7,28 - 7,19 (m, 2 H), 6,13 (s, 1 H), 5,76, 3,36 (s, 3 H), 2,04 (m, 1 H), 1,93 (s, 3 H), 1,21 - 1,07 (m, 4 H).
- 20

Ejemplo 24: (R)-6-(4-clorofenil)-3-ciclopropil-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-5,6-dihidropirrolo-[3,4-c]-pirazol-4(1H)-ona



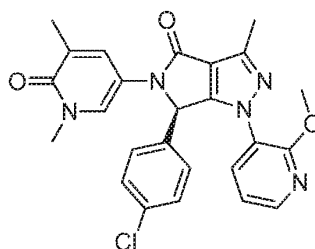
Se obtuvo el compuesto del título enantioméricamente puro (>99 % de ee) después de la cromatografía de preparación quiral (sistema: Gilson PLC 2020; columna: Chiracel OD-H, 5 µm, 20 x 250 mm; fase móvil: heptano/EtOH/MeOH, 80:10:10; flujo: 10 ml/minuto; detección UV: 210 nm) de la mezcla racémica de la 6-(4-clorofenil)-3-ciclopropil-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-5,6-dihidropirrol-3-il)-pirazol-4(1H)-ona

5 (Ejemplo 23).

(R)-6-(4-clorofenil)-3-ciclopropil-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-5,6-dihidropirrol-3-il)-pirazol-4(1H)-ona. t_R : 7,13 min (sistema: Agilent HPLC; columna: Chiracel OD-H, 5 µm, 4,6 x 250 mm; fase móvil: heptano/EtOH/MeOH, 80:10:10 (isocrática); flujo: 1 ml/minuto; detección UV: 210 nm).

10 (S)-6-(4-clorofenil)-3-ciclopropil-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-5,6-dihidropirrol-3-il)-pirazol-4(1H)-ona. t_R : 9,95 min (sistema: Agilent HPLC; columna: Chiracel OD-H, 5 µm, 4,6 x 250 mm; fase móvil: heptano/EtOH/MeOH, 80:10:10 (isocrática); flujo: 1 ml/minuto; detección UV: 210 nm).

Ejemplo 25: (R)-6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-(2-metoxipiridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3-il)-pirazol-4(1H)-ona

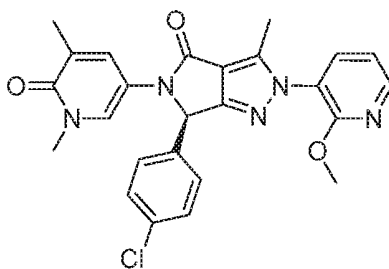


15 Se obtuvo el compuesto del título enantioméricamente puro (>99 % de ee) después de la cromatografía de preparación quiral (sistema: SFC de preparación de Mg II; columna: Chiralpak AD-H, 30 x 250 mm; fase móvil: $scCO_2$ /MeOH, 55:45 (isocrática), flujo: 50 ml/minuto) de la mezcla racémica de la 6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-(2-metoxipiridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3-il)-pirazol-4(1H)-ona (Ejemplo 17a).

20 (S)-6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-(2-metoxipiridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3-il)-pirazol-4(1H)-ona, t_R : 2,34 min (sistema: Thar Analytical SFC; columna: Chiralpak AD-H, 4,6 x 250 mm; fase móvil: $scCO_2$ /MeOH (DEA al 0,05 %), 50:50 (isocrática), flujo: 2 ml/minuto; detección UV: 220 nm).

(R)-6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-(2-metoxipiridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3-il)-pirazol-4(1H)-ona, t_R : 2,76 min (sistema: Thar Analytical SFC; columna: Chiralpak AD-H, 4,6 x 250 mm; fase móvil: $scCO_2$ /MeOH (DEA al 0,05 %), 50:50 (isocrática), flujo: 2 ml/minuto; detección UV: 220 nm).

25 **Ejemplo 26: (R)-6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-2-(2-metoxipiridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3-il)-pirazol-4(2H)-ona**

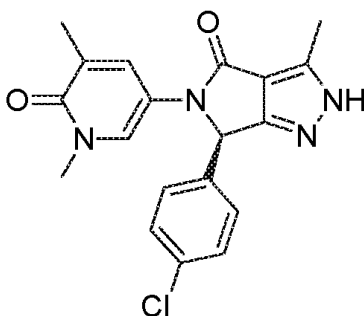


30 Se obtuvo el compuesto del título enantioméricamente puro (>99 % de ee) después de la cromatografía de preparación quiral (sistema: SFC de preparación de Mg II; columna: Chiralpak AD-H, 30 x 250 mm; fase móvil: $scCO_2$ /MeOH, 55:45 (isocrática), flujo: 50 ml/minuto) de la mezcla racémica de la 6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-2-(2-metoxipiridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3-il)-pirazol-4(2H)-ona (Ejemplo 17b).

(S)-6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-2-(2-metoxipiridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3-il)-pirazol-4(2H)-ona, t_R : 4,75 min (sistema: Thar Analytical SFC; columna: Chiralpak AD-H, 4,6 x 250 mm; fase móvil: $scCO_2$ /MeOH (DEA al 0,05 %), 50:50 (isocrática), flujo: 2 ml/minuto; detección UV: 220 nm).

35 (R)-6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-2-(2-metoxipiridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3-il)-pirazol-4(2H)-ona, t_R : 6,46 min (sistema: Thar Analytical SFC; columna: Chiralpak AD-H, 4,6 x 250 mm; fase móvil: $scCO_2$ /MeOH (DEA al 0,05 %), 50:50 (isocrática), flujo: 2 ml/minuto; detección UV: 220 nm).

Ejemplo 27: (R)-6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3-il)-pirazol-4(2H)-ona

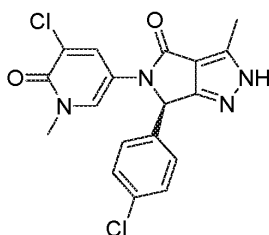


Se obtuvo el compuesto del título enantioméricamente puro (>99 % de ee) después de la cromatografía de preparación quiral (sistema: Gilson PLC 2020; columna: Chiralpak IA, 5 μ m, 20 x 250 mm; fase móvil: heptano/EtOH, 50:50; flujo: 10 ml/minuto; detección UV: 220 nm) de la mezcla racémica de la 6-(4-clorofenil)-3-ciclopropil-5-(1,5-

5 dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-5,6-dihidropirrolo-[3,4-c]-pirazol-4(1H)-ona (Ejemplo 9).
(S)-6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrolo-[3,4-c]-pirazol-4(2H)-ona. t_R : 5,92 min (sistema: Agilent HPLC; columna: Chiralpak IA, 5 μ m, 4,6 x 250 mm; fase móvil: heptano/EtOH, 50:50 (isocrática); flujo: 1 ml/minuto; detección UV: 220 nm).

10 (R)-6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrolo-[3,4-c]-pirazol-4(2H)-ona. t_R : 8,74 min (sistema: Agilent HPLC; columna: Chiralpak IA, 5 μ m, 4,6 x 250 mm; fase móvil: heptano/EtOH, 50:50 (isocrática); flujo: 1 ml/minuto; detección UV: 220 nm).

Ejemplo 28: (R)-5-(5-cloro-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-6-(4-clorofenil)-3-metil-5,6-dihidropirrolo-[3,4-c]-pirazol-4(2H)-ona



15 Se obtuvo el compuesto del título enantioméricamente puro (>99 % de ee) después de la cromatografía de preparación quiral (sistema: Gilson PLC 2020; columna: Chiralpak ID, 5 μ m, 20 x 250 mm; fase móvil: heptano/EtOH, 80:20; flujo: 11 ml/minuto; detección UV: 210 nm) de la mezcla racémica de la 5-(5-cloro-1-metil-6-oxo-1,6-

20 (S)-5-(5-cloro-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-6-(4-clorofenil)-3-metil-5,6-dihidropirrolo-[3,4-c]-pirazol-4(2H)-ona.
 t_R : 6,70 min (sistema: Merck HPLC; columna: Chiralpak ID, 5 μ m, 4,6 x 250 mm; fase móvil: heptano/EtOH/MeOH, 60:20:20 (isocrática); flujo: 1 ml/minuto; detección UV: 210 nm).

(R)-5-(5-cloro-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-6-(4-clorofenil)-3-metil-5,6-dihidropirrolo-[3,4-c]-pirazol-4(2H)-ona.
 t_R : 8,32 min (sistema: Merck HPLC; columna: Chiralpak ID, 5 μ m, 4,6 x 250 mm; fase móvil: heptano/EtOH/MeOH, 60:20:20 (isocrática); flujo: 1 ml/minuto; detección UV: 210 nm).

25 ENSAYOS

La actividad de un compuesto de acuerdo con la presente invención se puede evaluar mediante los siguientes métodos.

Ensayos de enlace TR-FRET *in vitro* para BRD2, BRD3 y BRD4:

30 Todos los ensayos se llevaron a cabo en placas de microtitulación de 384 pocillos. Cada placa de ensayo contenía diluciones en serie de 8 puntos para 40 compuestos de prueba, más 16 controles altos y 16 controles bajos. Las etapas de manejo de líquidos y de incubación se hicieron en un Innovadyne Nanodrop Express equipado con un brazo robótico (Thermo CatX, Perkin Elmer/Caliper Twister II), y una incubadora (Liconic STX40, Thermo Citomat 2C450). Las placas de ensayo se prepararon mediante la adición de 50 nanolitros por pozo de la solución del compuesto en sulfóxido de dimetilo (DMSO) al 90 % con el nanodosificador HummingBird (Zinsser Analytic). El

35 ensayo se inició mediante la adición por etapas de 4,5 microlitros por pozo de la proteína del bromodominio (HEPES 50 mM, pH de 7,5, Tween 20 al 0,005 %, albúmina de suero bovino (BSA) al 0,1 %, NaCl 50 mM, His-Brd2(60-472) 45 nM o His-Brd3(20-477) 45 nM o His-Brd4(44-477) 45 nM, todas las proteínas se produjeron en la empresa), y 4,5 microlitros por pozo de la solución de péptido (HEPES 50 mM, pH de 7,5, Tween 20 al 0,005 %, albúmina de suero bovino (BSA) al 0,1 %, NaCl 50 mM, acetil-histona H4 60 nM (AcK 5, 8, 12, 16) (Biosynton GmbH)). Las reacciones

se incubaron a 30 °C durante 35 min. Subsecuentemente se añadieron 4,5 microlitros por pozo de mezcla de detección (HEPES 50 mM, pH de 7,5, Tween 20 al 0,005 %, albúmina de suero bovino (BSA) al 0,1 %, NaCl 50 mM, anticuerpo anti-His6 marcado con Eu 3 nM, estreptavidina-aloficocianina 21 nM). Después de 35 min de incubación a 30 °C, las placas se midieron en un lector de múltiples etiquetas Perkin Elmer EnVision. Las concentraciones causantes de los valores de inhibición del 50 % (IC₅₀) se determinaron a partir de los valores de porcentaje de inhibición en diferentes concentraciones de los compuestos mediante el análisis de regresión no lineal.

Ensayo de enlace *in vitro* AlphaScreen para CREBBP

Con el objeto de evaluar la selectividad del bromodominio, establecimos un ensayo de enlace utilizando el bromodominio codificado por el gen de CREBBP. Los compuestos se probaron en el ensayo de CREBBP con un protocolo similar; sin embargo utilizando AlphaScreen (Amplified Luminescent Proximity Homogeneous Assay [Ensayo Homogéneo de Proximidad Luminiscente Amplificado], Perkin Elmer) como la lectura de detección en lugar de TR-FRET. El ensayo se inició mediante la adición por etapas de 4,5 microlitros por pozo de la proteína del bromodominio (HEPES 50 mM, pH de 7,5, Tween 20 al 0,005 %, albúmina de suero bovino (BSA) al 0,02 %, NaCl 150 mM, His-CREBBP(1081-1197) 324 nM (producción por encargo en Viva Biotech Ltd.)), y 4,5 microlitros por pozo de la solución de péptido (HEPES 50 mM, pH de 7,5, Tween 20 al 0,005 %, albúmina de suero bovino (BSA) al 0,02 %, NaCl 150 mM, acetil-histona H4 120 nM (AcK 5, 8, 12) (Biosyntan GmbH)). Las reacciones se incubaron a 30 °C durante 35 min. Subsecuentemente se añadieron 4,5 microlitros por pozo de mezcla de detección (HEPES 50 mM, pH de 7,5, Tween 20 al 0,005 %, albúmina de suero bovino (BSA) al 0,02 %, NaCl 150 mM, 45 microgramos/ml de perlas aceptoras de quelato de Ni, 45 microgramos/ml de perlas donadoras de estreptavidina) (Perkin Elmer)). Después de 60 min de incubación a temperatura ambiente, las placas se midieron en un lector de múltiples etiquetas Perkin Elmer EnVision. Los valores IC₅₀ se determinaron a partir de los valores de porcentaje de inhibición en diferentes concentraciones de los compuestos mediante el análisis de regresión no lineal.

Para hacer una perfilación adicional de la selectividad del bromodominio, se llevaron a cabo ensayos de panel adicionales utilizando protocolos análogos con modificaciones menores específicas para el ensayo individual, utilizando cualquiera de TR-FRET o AlphaScreen para la detección.

Preparación de diluciones de compuestos

Los compuestos de prueba se disolvieron en sulfóxido de dimetilo (DMSO) (10 mM), y se transfirieron a tubos de matriz de fondo plano o en forma de V de 1,4 ml llevando una matriz bidimensional única. Las soluciones de suministro se almacenaron a +2 °C si no se utilizaron inmediatamente. Para el procedimiento de prueba, los frascos se descongelaron y se identificaron mediante un explorador en donde se generó una hoja de procesamiento que guio las siguientes etapas de procesamiento.

Las diluciones de los compuestos se hicieron en placas de 96 pocillos. Este formato hizo posible el ensayo de máximo 40 compuestos de prueba individuales en 8 concentraciones (puntos individuales), incluyendo 4 compuestos de referencia, si se desea (los inhibidores de BET conocidos a partir de la técnica anterior, para este y otros ensayos del tipo que se da a conocer en el presente documento). El protocolo de dilución incluyó la producción de "placas de pre-dilución", "placas maestras" y "placas de ensayo".

Placas de pre-dilución: Se utilizaron placas de poli-propileno de 96 pocillos como placas de pre-dilución. Se preparó un total de 4 placas de pre-dilución incluyendo 10 compuestos de prueba cada una, en las posiciones de placa A1 a A10, un compuesto estándar en A11, y un control de sulfóxido de dimetilo (DMSO) en A12. Todas las etapas de dilución se hicieron en un robot HamiltonSTAR.

Placas maestras: 30 microlitros de las diluciones de los compuestos individuales incluyendo el compuesto estándar y los controles de las 4 "placas de pre-dilución" se transfirieron a una "placa maestra" de 384 pocillos incluyendo las siguientes concentraciones: 10,000, 3,003, 1,000, 300, 100, 30, 10 y 3 µM, respectivamente, en el 90 % de sulfóxido de dimetilo.

Placas de ensayo: Entonces se prepararon "placas de ensayo" idénticas mediante la etapa por pipeta de 50 nanolitros cada una, de diluciones de los compuestos de las "placas maestras" en "placas de ensayo" de 384 pocillos, por medio de un dosificador de 384 canales HummingBird. Estas placas se utilizaron directamente para el ensayo que se llevó a cabo en un volumen total de 13,55 microlitros. Esto condujo a una concentración final del compuesto de 37, 11, 3,7, 1,1, 0,37, 0,11, 0,037 y 0,011 µM y a una concentración final de sulfóxido de dimetilo (DMSO) del 0,37 % en el ensayo.

Ensayo de inhibición del crecimiento celular

Se emplearon las líneas celulares de leucemia humana MV-4-11, THP-1 y K-562 para caracterizar el efecto de los inhibidores de BET sobre la proliferación y viabilidad celular. Las células se obtuvieron en la American Type Culture Collection (ATCC), y se cultivaron a 37 °C en una incubadora humidificada con CO₂ al 5 % en los siguientes medios:

MV-4-11: DMEM alto en glucosa (Animed n.º 1-26F01-I), suero fetal de becerro (FCS) al 10 % (Animed n.º 2-01F26-I), L-glutamina 4 mM (Animed n.º 5-10K50), piruvato de sodio 1 mM (Animed n.º G03625P), 1x penicilina-estreptomicina (Animed n.º F12478P); K-562: MEM de Iscove (Animed n.º 1-28F16-I), suero fetal de becerro (FCS) al 10 % (Animed n.º 2-01F26-I), L-glutamina 4 mM (Animed n.º 5-10K50), 1x penicilina-estreptomicina (Animed n.º F12478P); THP-1: RPMI-1640 (Animed n.º 1-41F01-I), suero fetal de becerro (FCS) al 10 % (Animed n.º 2-01F26-I), L-glutamina 2 mM (Animed n.º 5-10K50), HEPES 10 mM (Animed n.º 5-31F100), piruvato de sodio 1 mM (Animed n.º G03625P), 1x penicilina-estreptomicina (Animed n.º F12478P). Las líneas de leucemia mieloblástica aguda (AML) MV-4-11 y THP-1 son muy sensibles a los inhibidores de BET y muestran la muerte celular masiva después de la inhibición de BET (Zuber y colaboradores, Nature, 478 (2011), 524-8). La supresión de la proliferación/ viabilidad celular mediada por el compuesto se evaluó mediante la cuantificación de los niveles celulares de ATP utilizando el reactivo CellTiter-Glo (CTG) (Promega). Dicho de una manera breve, las células se sembraron en 20 microlitros del medio fresco en placas de 384 pocillos, seguido por la adición de 5 microlitros del medio que contenía las diluciones de los compuestos a 5 veces su concentración final destinada. Los efectos de la respuesta a la dosis se evaluaron mediante diluciones en serie triples del compuesto de prueba, empezando en 10 µM. En seguida de la incubación de las células durante 4 días a 37 °C y con CO₂ al 5 %, se cuantificó el efecto de los inhibidores sobre la viabilidad celular en seguida de la adición de 20 microlitros de CTG y la cuantificación de la luminiscencia (tiempo de integración: 100 milisegundos) de acuerdo con el manual del vendedor, utilizando un lector de placas de múltiples modos Tecan M200 correspondientemente equipado (TECAN, Suiza). Para el análisis de los datos, se sustrajo de todos los puntos de datos el valor del fondo del ensayo determinado en los pocillos que contenían el medio, pero no células. Para hacer posible la diferenciación de los compuestos citotóxicos de los citostáticos, se evalúa el número de células viables en relación con aquél observado en el momento de la adición del compuesto utilizando una placa de células separada (día 0). El efecto de la concentración de un compuesto de prueba particular sobre la proliferación/viabilidad celular se expresa como el porcentaje de la lectura de luminiscencia del fondo y la corregida en el día 0 obtenida para las células tratadas con vehículo solamente (DMSO, concentración final del 0,1 %), el cual es establecido como el 100 %, mientras que esa lectura de luminiscencia para los pocillos que contenían el medio se ajusta como -100 %. Las concentraciones de los compuestos que conducían a la inhibición del crecimiento media máxima (IC₅₀) e inhibición del crecimiento total (TGI) se determinaron utilizando el ajuste de curva de cuatro parámetros convencionales.

Ensayo de formación de focos de Nut

Las células de carcinoma de la línea media de NUT HCC2494 (que expresaban la fusión de BRD4-NUT) se obtuvieron en la University of Texas Southwestern, y se cultivaron en un medio RPMI-1640 que contenía suero fetal de becerro al 10 % a 37 °C en una incubadora humidificada con CO₂ al 5 %.

La inhibición de la actividad de BRD4 mediada por el compuesto se monitoreó mediante la cuantificación del número y de la intensidad de focos nucleares de BRD4-NUT utilizando el microscopio de inmunofluorescencia automatizado. Dicho de una manera breve, se sembraron 5,000 células en 20 microlitros del medio fresco en placas previamente recubiertas con poli-D-lisina de 384 pocillos, y se incubaron durante la noche a 37 °C y con CO₂ al 5 %, seguido por la adición de 5 microlitros del medio que contenía las diluciones de los compuestos a 5 veces su concentración final destinada. Los efectos de la respuesta a la dosis se evaluaron mediante diluciones en serie triples del compuesto de prueba, empezando en 10 µM. En seguida de la incubación de las células durante 24 h a 37 °C y con CO₂ al 5 %, las células se fijaron mediante incubación con formaldehído al 3,7 % durante 10 min, seguida por tinte de inmunofluorescencia utilizando anticuerpo de conejo anti-NUT (Cell Signaling Technologies, Cat n.º 3625) como el anticuerpo primario, y anticuerpo de cabra anti-conejo marcado con AlexaFluor488 (Invitrogen, Cat n.º A11008) como el anticuerpo secundario (posteriormente complementado con 1 microgramo/ml de Hoechst33342 como el tinte de ADN). Se tomaron imágenes de las placas de ensayo utilizando los juegos de filtros apropiados en la plataforma del microscopio de fluorescencia automatizado Celloomics VTi (ThermoFisher Scientific), y la población promedio del número de focos de NUT por núcleo se cuantifica utilizando el algoritmo de análisis de imágenes Cellomics Spot Detection BioApplication (ThermoFisher Scientific). El efecto de la concentración de un compuesto de prueba particular sobre el número y la intensidad de los focos NUT se expresa como el porcentaje del valor obtenido para las células tratadas con vehículo solamente (sulfóxido de dimetilo (DMSO), concentración final del 0,1 %), el cual se estableció como el 100 %. Las concentraciones de los compuestos que conducían a la inhibición media máxima (IC₅₀) de los parámetros de lectura anteriormente mencionados se determinaron utilizando el ajuste de la curva de cuatro parámetros estándar.

Utilizando los ensayos bioquímicos y celulares como se describen en esta solicitud, los compuestos de la invención exhiben eficacia inhibitoria de acuerdo con las Tablas 1 y 2, proporcionadas a continuación.

Tabla 1: Valores IC₅₀ bioquímicos*

Ejemplo	IC ₅₀ (µM)			
	BRD4	BRD2	BRD3	CREBBP
1	0,028	0,032	0,03	1,4

ES 2 650 562 T3

Ejemplo	IC ₅₀ (μM)			
	BRD4	BRD2	BRD3	CREBBP
2	0,016	0,022	0,02	1,2
3	0,043	0,042	0,034	
4	0,014	0,015	0,013	3
5	0,096	0,074	0,082	5
6	0,12	0,094	0,08	4,1
7a	0,11	0,076	0,065	4,4
7b	0,041	0,032	0,024	1,9
8a	0,17	0,12	0,12	> 37
8b	0,21	0,16	0,14	5,4
9	0,09	0,072	0,067	3
10	0,089	0,084	0,062	3
11	0,04	0,038	0,034	1,9
12	0,067	0,052	0,046	1,4
13	0,103	0,097	0,0755	2,2
14	0,1	0,094	0,074	5,1
15	0,0625	0,07	0,0655	1
16	0,056	0,0485	0,052	0,545
17a	0,086	0,078	0,064	4
17b	0,056	0,053	0,046	1,3
18a	0,079	0,068	0,062	3,1
18b	0,041	0,035	0,039	1,3
19	0,1	0,08	0,073	3,8
20a	0,062	0,061	0,05	2
20b	0,056	0,049	0,048	3
21a	0,071	0,063	0,052	> 11,1
21b	0,11	0,1	0,094	4,7
22	0,14	0,16	0,089	2,9
23		0,052	0,049	3,3
24	0,073	0,074	0,047	1,7
25	0,15	0,13	0,064	2
26	0,091	0,11	0,052	1
27	0,037	0,037	0,027	1,2
28	0,16	0,17	0,069	2,2

* Valores de cualquier determinación individual o n ≥ 2 determinaciones independientes.

Tabla 2: Valores IC₅₀ Celulares*

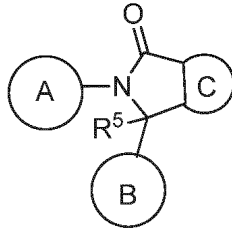
Ejemplo	MV-4-11 GI50 (μM)	MV-4-11 TGI (μM)	THP-1 GI50 (μM)	THP-1 TGI (μM)	K-562 GI50 (μM)	K-562 TGI (μM)	HCS Brd4-NUT IC ₅₀ (μM)
1	0,0246	0,0412	0,0449	0,104	0,141	> 10	0,0333
2	0,0154	0,0303	0,0219	0,0468	0,121	> 10	0,0201
3	0,0375	0,064	0,0901	0,264	0,268	> 10	0,049
4	0,0205	0,0336	0,0456	0,1	0,109	> 10	0,0299
5	0,0538	0,1	0,101	0,179	0,658	> 10	0,138
6	0,0741	0,134	0,189	0,352	0,558	> 10	0,108

ES 2 650 562 T3

Ejemplo	MV-4-11 GI50 (μM)	MV-4-11 TGI (μM)	THP-1 GI50 (μM)	THP-1 TGI (μM)	K-562 GI50 (μM)	K-562 TGI (μM)	HCS Brd4-NUT IC ₅₀ (μM)
7a	0,0877	0,121	0,204	0,384	0,719	> 10	0,0609
7b	0,0567	0,0824	0,104	0,285	0,548	> 10	0,0744
8a	0,141	0,294	0,127	0,493	0,991	> 10	0,298
8b	0,117	0,195	0,293	0,562	0,999	> 10	0,058
9	0,051	0,0721	0,0885	0,206	0,322	> 10	0,0438
10	0,0394	0,0655	0,0764	0,132	0,336	> 10	0,108
11	0,0186	0,0294	0,0366	0,0822	0,127	> 10	0,0417
12	0,0191	0,0374	0,0622	0,112	0,193	> 10	0,0484
13	0,03	0,0562	0,0698	0,119	0,484	> 10	
14	0,122	0,203	0,219	0,352	0,615	> 10	
15	0,0546	0,0924	0,0678	0,143	0,64	> 10	0,0607
16	0,0236	0,0437	0,043	0,0922	0,197	> 10	0,0606
17a	0,0581	0,0879	0,102	0,175	0,293	> 10	0,0561
17b	0,027	0,0343	0,0724	0,117	0,154	> 10	0,0403
18a	0,0893	0,101	0,0896	0,175	0,574	> 10	0,0666
18b	0,0169	0,0313	0,044	0,0931	0,149	> 10	0,0217
19	0,0505	0,0798	0,091	0,164	0,302	> 10	0,0667
20a	0,0496	0,065	0,104	0,178	0,236	> 10	0,0736
20b	0,0386	0,0542	0,0931	0,156	0,239	> 10	0,0576
21a	0,115	0,177	0,166	0,331	0,404	> 10	
21b	0,105	0,208	0,209	0,396	0,51	> 10	
22	0,0495	0,08865	0,0874	0,165	0,2775	> 10	
23	0,0256	0,048	0,05935	0,1285	0,1695	> 10	
24	0,02155	0,03495	0,0297	0,06225	0,10305	> 10	
25	0,0407	0,07255	0,0727	0,1355	0,206	> 10	
26	0,02255	0,03675	0,0276	0,0524	0,1735	> 10	
27	0,0271	0,0496	0,0562	0,115	0,112	> 10	
28	0,0493	0,0864	0,10965	0,2015	0,318	> 10	
* Valores a partir de cualquier determinación individual o n ≥ 2 determinaciones independientes,							

REIVINDICACIONES

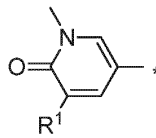
1. Un compuesto de fórmula (I) o una sal del mismo,



(I)

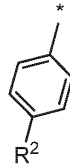
en la que

5 A es



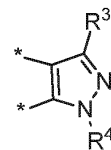
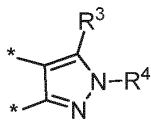
;

B es



;

C se selecciona de:



10

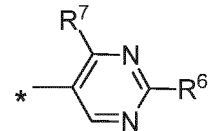
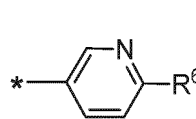
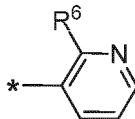
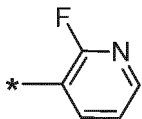
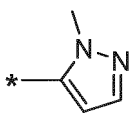
y

;

R¹ se selecciona de metilo y cloro;

R² se selecciona de cloro y fluoro;

R³ se selecciona de metilo y ciclopropilo; y R⁴ se selecciona de H; alquilo (C₁-C₄) opcionalmente sustituido con -OH u -O-alquilo (C₁-C₄); ciclopropilo;



15

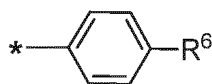
;

;

;

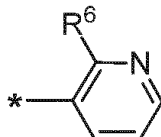
;

y



;

o
R³ es:



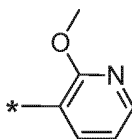
;

- 5 y R⁴ se selecciona de H; alquilo (C₁-C₄) opcionalmente sustituido con -OH u -O-alquilo (C₁-C₄); y ciclopropilo;
R⁵ es H;
R⁶ es -O-alquilo (C₁-C₄);
R⁷ se selecciona de H y metoxi;

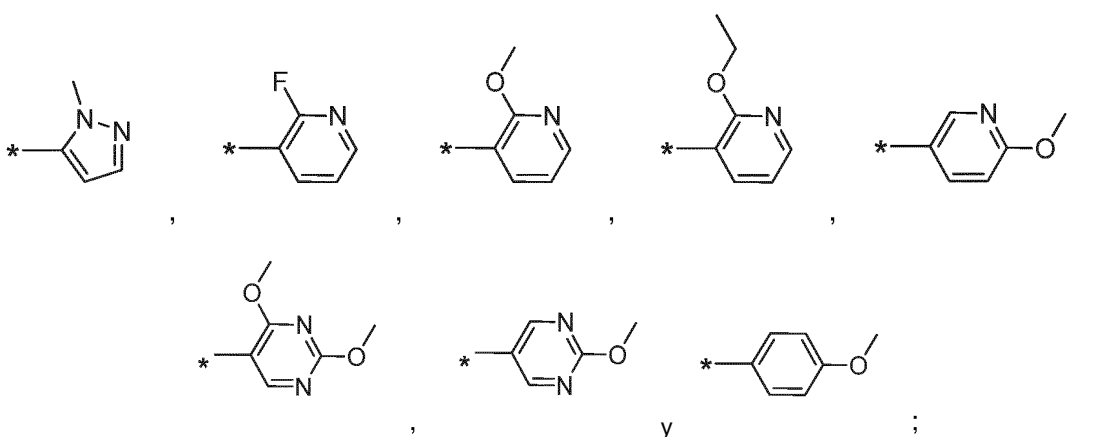
y * indica el punto de unión con el resto de la molécula.

- 10 2. Un compuesto de fórmula (I), o una sal del mismo, de acuerdo con la reivindicación 1, en el que R² es cloro.

3. Un compuesto de fórmula (I), o una sal del mismo, de acuerdo con la reivindicación 1 o con la reivindicación 2, en el que R³ se selecciona de metilo, ciclopropilo y



- 15 4. Un compuesto de fórmula (I), o una sal del mismo, de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que R⁴ se selecciona de metilo, etilo, isopropilo, -CH₂CH₂OH, -CH₂CH₂OCH₃, ciclopropilo,



o R⁴ es H.

5. Un compuesto de fórmula (I), o una sal del mismo, de acuerdo con la reivindicación 1, seleccionado de:

- 20 Ejemplo 1: 6-(4-clorofenil)-3-ciclopropil-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-metil-5,6-dihidropirrolo-[3,4-c]-pirazol-4(1H)-ona;

Ejemplo 2: (R)-6-(4-clorofenil)-3-ciclopropil-5-(3,8-dimetil-[1,2,4]-triazolo-[4,3-a]-piridin-6-il)-1-metil-5,6-dihidropirrolo-[3,4-c]-pirazol-4(1H)-ona;

Ejemplo 3: 6-(4-clorofenil)-3-ciclopropil-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-(2-hidroxi-etil)-5,6-dihidropirrol-3,4-c]-pirazol-4(1H)-ona;

Ejemplo 4: 6-(4-clorofenil)-3-ciclopropil-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-(2-metoxi-etil)-5,6-dihidropirrol-3,4-c]-pirazol-4(1H)-ona;

5 Ejemplo 5: 6-(4-clorofenil)-3-ciclopropil-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-(1-metil-1H-pirazol-5-il)-5,6-dihidropirrol-3,4-c]-pirazol-4(1H)-ona;

Ejemplo 6: 5-(5-cloro-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-6-(4-clorofenil)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c]-pirazol-4(2H)-ona;

10 Ejemplo 7a: 5-(5-cloro-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-6-(4-clorofenil)-1-(2-metoxipiridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c]-pirazol-4(1H)-ona;

Ejemplo 7b: 5-(5-cloro-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-6-(4-clorofenil)-2-(2-metoxipiridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c]-pirazol-4(2H)-ona;

Ejemplo 8a: 5-(5-cloro-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-6-(4-clorofenil)-1-(2-metoxi-pirimidin-5-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c]-pirazol-4(1H)-ona;

15 Ejemplo 8b: 5-(5-cloro-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-6-(4-clorofenil)-2-(2-metoxi-pirimidin-5-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c]-pirazol-4(2H)-ona;

Ejemplo 9: 6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c]-pirazol-4(2H)-ona;

20 Ejemplo 10: 6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1,3-dimetil-5,6-dihidropirrol-3,4-c]-pirazol-4(1H)-ona;

Ejemplo 11: 6-(4-clorofenil)-1-ciclopropil-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c]-pirazol-4(1H)-ona;

Ejemplo 12: 6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-isopropil-3-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c]-pirazol-4(1H)-ona;

25 Ejemplo 13: 6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-(4-metoxifenil)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c]-pirazol-4(1H)-ona;

Ejemplo 14: 6-(4-clorofenil)-2-(2,4-dimetoxi-pirimidin-5-il)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c]-pirazol-4(2H)-ona;

30 Ejemplo 15: 6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-3-(2-metoxipiridin-3-il)-1-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c]-pirazol-4(1H)-ona;

Ejemplo 16: (*R*)-6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-3-(2-metoxipiridin-3-il)-1-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c]-pirazol-4(1H)-ona;

Ejemplo 17a: 6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-(2-metoxipiridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c]-pirazol-4(1H)-ona;

35 Ejemplo 17b: 6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-2-(2-metoxipiridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c]-pirazol-4(2H)-ona;

Ejemplo 18a: 6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-(2-etoxi-piridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c]-pirazol-4(1H)-ona;

40 Ejemplo 18b: 6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-2-(2-etoxi-piridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c]-pirazol-4(2H)-ona;

Ejemplo 19: 6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-(2-fluoro-piridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c]-pirazol-4(1H)-ona;

Ejemplo 20a: 6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-2-(6-metoxipiridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(2H)-ona;

Ejemplo 20b: 6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-(6-metoxipiridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(1H)-ona;

5 Ejemplo 21a: 6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-(2-metoxi-pirimidin-5-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(1H)-ona;

Ejemplo 21b: 6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-2-(2-metoxi-pirimidin-5-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(2H)-ona;

10 Ejemplo 22: (R)-6-(4-clorofenil)-3-ciclopropil-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-(1-metil-1H-pirazol-5-il)-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(1H)-ona;

Ejemplo 23: 6-(4-clorofenil)-3-ciclopropil-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(1H)-ona;

Ejemplo 24: (R)-6-(4-clorofenil)-3-ciclopropil-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(1H)-ona;

15 Ejemplo 25: (R)-6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-1-(2-metoxipiridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(1H)-ona;

Ejemplo 26: (R)-6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-2-(2-metoxipiridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(2H)-ona;

20 Ejemplo 27: (R)-6-(4-clorofenil)-5-(1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(2H)-ona; y

Ejemplo 28: (R)-5-(5-cloro-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-il)-6-(4-clorofenil)-3-metil-5,6-dihidropirrol-3,4-c-pirazol-4(2H)-ona.

25 6. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables.

7. Una combinación que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y uno o más agentes terapéuticamente activos.

30 8. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso como un medicamento.

9. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de cáncer.