

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 654 423**

51 Int. Cl.:

C07D 487/04 (2006.01)

A61K 31/55 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 43/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.11.2010 E 16152464 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.10.2017 EP 3050885**

54 Título: **Inhibidor de bromodominio de benzodiazepina**

30 Prioridad:

05.11.2009 GB 0919433

22.06.2010 GB 201010509

06.08.2010 WO PCT/EP2010/061518

25.08.2010 GB 201014231

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

13.02.2018

73 Titular/es:

GLAXOSMITHKLINE LLC (100.0%)
Corporation Service Company, 2711 Centerville
Road, Suite 400
Wilmington DE 19808, US

72 Inventor/es:

BAILEY, JAMES;
GOSMINI, ROMAIN LUC MARIE;
MIRGUET, OLIVIER y
WITHERINGTON, JASON

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 654 423 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

Inhibidor de bromodominio de benzodiazepina

Campo de la invención

La presente invención se refiere a compuestos de benzodiazepina, a composiciones farmacéuticas que contienen tales compuestos y a su uso en terapia.

Antecedentes de la invención

Los genomas de los organismos eucariotas están muy organizados dentro del núcleo de la célula. Las largas cadenas de ADN dúplex están enrolladas alrededor de un octámero de proteínas de histona (más normalmente comprendiendo dos copias de histonas H2A, H2B H3 y H4) para formar un nucleosoma. Esta unidad básica se comprime después adicionalmente mediante la agregación y el pliegue de los nucleosomas para formar una estructura de cromatina muy condensada. Es posible una gama de diferentes estados de condensación y la estrechez de esta estructura varía durante el ciclo celular, siendo más compacta durante el procedimiento de división celular. La estructura de cromatina tiene una función crítica en la regulación de la transcripción genética, que no se puede presentar de una forma eficiente a partir de cromatina muy condensada. La estructura de cromatina está controlada por una serie de modificaciones posteriores a la traducción a las proteínas de histona, en particular las histonas H3 y H4 y más comúnmente dentro de las colas de histona que se extienden más allá de la estructura del nucleosoma del núcleo. Estas modificaciones incluyen acetilación, metilación, fosforilación, ubiquitinilación y SUMOilación. Estas marcas epigenéticas se escriben y borran por enzimas específicas, que colocan las marcas sobre los residuos específicos dentro de la cola de histona, formando de esta manera un código epigenético, que después se interpreta por la célula para permitir la regulación de la estructura de cromatina específica del gen y de este modo la transcripción.

La acetilación de histona normalmente está más asociada a la activación de la transcripción genética, debido a que la modificación afloja la interacción del ADN y el octámero de histona mediante el cambio de la electrostática. Además de este cambio físico, las proteínas específicas se enlazan con los residuos de lisina acetilados dentro de las histonas para leer el código epigenético. Los bromodominios son dominios distintos pequeños (de aproximadamente 110 aminoácidos) dentro de las proteínas que se enlazan con los residuos de lisina acetilados comúnmente pero no exclusivamente en el contexto de las histonas. Hay una familia de alrededor de 50 proteínas que se sabe que contienen bromodominios y tienen una gama de funciones dentro de la célula.

La familia de proteínas BET que contienen bromodominio comprende 4 proteínas (BRD2, BRD3, BRD4 y BRD-t) que contienen bromodominios en fila capaces de enlazarse a dos residuos de lisina acetilados en estrecha proximidad, aumentando la especificidad de la interacción. Se reseña que BRD2 y BRD3 se asocian con las histonas a lo largo de los genes activamente transcritos y pueden estar involucradas en la facilitación de la elongación de la transcripción (Leroy y colaboradores, Mol. Cell. 2008 30 (1): 51-60), mientras que la BRD4 parece estar involucrada en el reclutamiento del complejo pTEF-β hacia los genes inducibles, que da como resultado la fosforilación de la polimerasa de ARN y el aumento de la producción de transcripción (Hargreaves y colaboradores, Cell, 2009 138(1): 129-145). También se ha reseñado que las BRD4 y BRD3 se fusionan con NUT (proteína nuclear en los testículos), formando un oncogén de fusión novedoso, BRD4-NUT, en una forma altamente maligna de neoplasia epitelial (French y colaboradores, Cancer Research, 2003, 63, 304-307 y French y colaboradores, Journal of Clinical Oncology, 2004, 22 (20), 4135-4139). Los datos sugieren que las proteínas de fusión BRD-NUT contribuyen a la carcinogénesis (Oncogene, 2008, 27, 2237-2242). BRD-t se expresa de una manera única en los testículos y en el ovario. Se ha reseñado que todos los miembros de la familia tienen alguna función en el control o en la ejecución de aspectos del ciclo celular y se ha demostrado que permanecen de memoria epigenética. Además algunos virus hacen uso de estas proteínas para atar sus genomas a la cromatina de la célula hospedadora, como parte del procedimiento de la réplica viral (You y colaboradores Cell, 2004 117(3): 349-60).

La Solicitud de Patente japonesa JP2008-156311 divulga un derivado de bencimidazol que se dice que es un agente de enlace de bromodominio BRD2 que tiene utilidad con respecto a la infección / proliferación del virus.

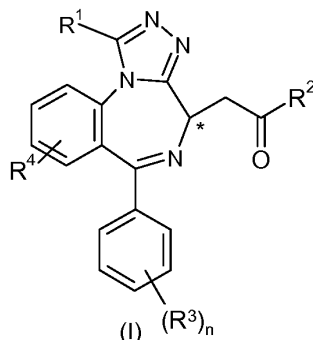
La Solicitud de Patente WO2009/084693A1 divulga una serie de derivados de tieno-triazolo-diazepina que se dice que inhiben el enlace entre una histona acetilada y una proteína que contiene bromodominio que se dice que son útiles como agentes anticancerígenos.

Se ha encontrado un nuevo compuesto que inhibe el enlace de los bromodominios con sus proteínas acetiladas cognadas, más particularmente una clase de compuestos que inhiben el enlace de los bromodominios de la familia BET con los residuos de lisina acetilados. Tales compuestos serán referidos de ahora en adelante como "inhibidores de bromodominio".

Sumario de la invención

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

más particularmente un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

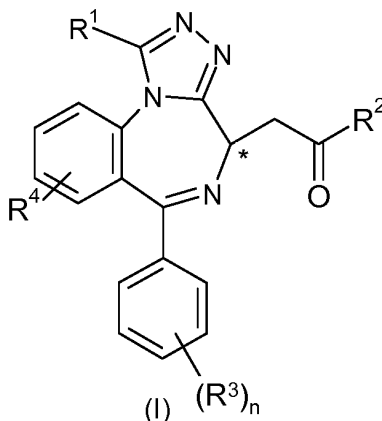


En un segundo aspecto de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables.

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

Descripción detallada de la invención

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



donde

es alquilo C_{1-3} ;

R^2 es $-NR^{2a}R^{2a'}$ en el que R^{2a} es hidrógeno y $R^{2a'}$ es heterociclilo C_{1-4} , en el que el heterociclilo está opcionalmente sustituido una vez por amino, hidroxilo o metilo;

cada R^3 está independientemente seleccionado de hidrógeno, hidroxilo, halo, alquilo C_{1-6} , haloalquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , haloalcoxi C_{1-6} , nitro, ciano, CF_3 , $-OCF_3$, $-COOR^5$ y - alquil $C_{1-4}OH$;

R^4 es hidroxilo, halo, alquilo C_{1-6} , haloalquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , haloalcoxi C_{1-6} , nitro, ciano, CF_3 , $-OCF_3$, $-COOR^5$; o $-OS(O)_2$ alquilo C_{1-4} ;

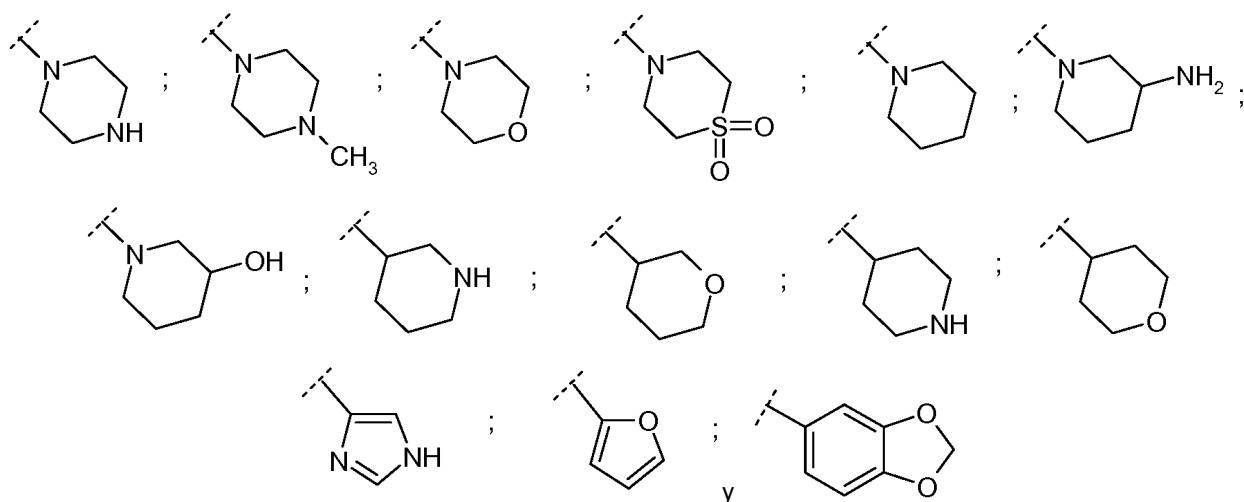
R^5 es alquilo C_{1-3} ; y

n es un número entero de 1 a 5.

En una realización de la invención, se prefieren los enantiómeros S.

Tal como se usa en el presente documento, el término "alquilo" se refiere a una cadena de hidrocarburo lineal o ramificada que contiene el número de átomos de carbono especificado. Por ejemplo, alquilo C_{1-6} quiere decir una alquilo lineal o ramificado que contiene al menos 1 y como mucho 6, átomos de carbono. Ejemplos de "alquilo" como se usan en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, metilo, etilo, n-propilo, n-butilo, n-pentilo, n-hexilol, isobutilo, isopropilol, t-butilo y 1,1-dimetilpropilo.

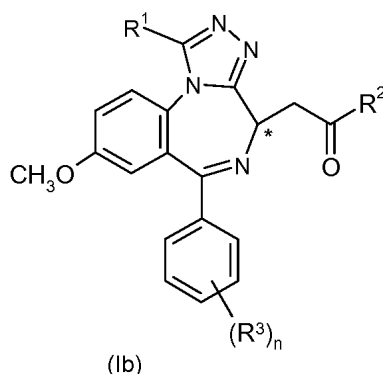
Tal como se usa en el presente documento, el término "alcoxi" se refiere a un grupo alcoxi lineal o ramificado que contiene el número especificado de átomos de carbono. Por ejemplo, alcoxi C_{1-6} quiere decir un grupo alcoxi que contiene al menos 1 y como mucho 6, átomos de carbono. Ejemplos de "alcoxi" como se usan en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, metoxi, etoxi, propoxi, prop-2-oxi, butoxi, but-2-oxi, 2-metilprop-1-oxi, 2-



5 En una realización de la invención, R^3 representa halo, alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} o CF_3 . En otra realización, R^3 representa cloro, fluoro, metoxi o CF_3 . En otra realización, R^3 representa 3-fluoro, 4-cloro, 4-fluoro, 4-metoxi, o 4- CF_3 . En una realización adicional R^3 representa 4-cloro.

En una realización de la invención, R^4 representa hidroxilo o alcoxi C_{1-6} . En otra realización, R^4 representa MeO.

En una realización de la invención, R^4 está localizado en la posición 8 tal como 8-MeO. Así en una realización la presente invención proporciona un compuesto de fórmula (Ib)



en la que:

R^1 , R^2 y R^3 y n son como se definen anteriormente para compuestos de fórmula (I).
n puede por ejemplo representar un número entero en el intervalo de 1 a 3 tal como 1.

15 Mientras que las realizaciones para cada variable se han enumerado generalmente por separado para cada variable esta invención incluye aquellos compuestos en los que varias realizaciones o cada realización en fórmula (I) se selecciona de cada una de las realizaciones enumeradas anteriormente. Por lo tanto, la presente invención pretende incluir todas las combinaciones de realizaciones para cada variable descrita en el presente documento incluyendo sales de las mismas.

En una realización, los ejemplos de compuestos de la presente invención incluyen:

20 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]-N-[2-(4-morfolinil)etil]acetamida;

o una sal del mismo.

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

Debido a su uso potencial en medicina, las sales de los compuestos de fórmula (I) son deseablemente farmacéuticamente aceptables. Las sales farmacéuticamente aceptables pueden incluir sales de ácidos o bases. Para una revisión sobre las sales adecuadas véase Berge et al., J. Pharm. Sci., 66: 1-19, (1977).

Típicamente, una sal farmacéuticamente aceptable se puede preparar fácilmente usando un ácido o base deseada según sea apropiado. La sal resultante puede precipitar de la solución y recogerse por filtración o se puede recuperar por evaporación del disolvente.

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

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

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

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

Se apreciará que muchos compuestos orgánicos pueden formar complejos con disolventes en los que se hacen reaccionar o a partir de los que precipitan o cristalizan. Estos complejos se conocen como "solvatos". Por ejemplo, un complejo con agua se conoce como "hidrato". Se pueden usar disolventes con puntos de ebullición altos y/o que pueden formar enlaces de hidrógeno, tales como agua, xileno, N-metilpirrolidinona, metanol y etanol, para formar solvatos. Procedimientos para la identificación de solvatos incluyen, entre otros, RMN y microanálisis. Los solvatos de los compuestos de fórmula (I) están dentro del alcance de la invención.

La presente invención incluye dentro de su alcance todas las formas estequiométricas y no estequiométricas posibles de los solvatos de los compuestos de fórmula (I). Se desvelan en el presente documento profármacos de los compuestos de fórmula (I) y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, que tras la administración al receptor son capaces de proporcionar (directa o indirectamente) un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o un metabolito activo o resto del mismo. Tales derivados son reconocibles por aquellos expertos en la materia, sin experimentación indebida. Sin embargo, se hace referencia a la enseñanza de Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery, 5ª edición, vol 1: Principles and Practice, que se incorpora en el presente documento por referencia al grado de la enseñanza de tales derivados.

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

Ciertos de los compuestos descritos en el presente documento pueden contener uno o más átomos quirales tales como isómeros ópticos, por ejemplo se pueden formar enantiómeros o diastereómeros. En consecuencia, la presente invención engloba todos los isómeros de los compuestos de fórmula (I) ya sea como isómeros individuales aislados tales como para estar sustancialmente libres del otro isómero (es decir, puros) o como mezclas (es decir racematos y mezclas racémicas).

De forma similar la invención también se extiende a isómeros conformacionales de compuestos de fórmula (I) y cualesquiera isómeros (*cis* y/o *trans*) geométricos de dichos compuestos.

Se puede aislar un isómero individual para que esté sustancialmente libre del otro isómero (es decir, puro) de modo que esté presente menos de un 10%, en particular menos de aproximadamente un 1%, por ejemplo menos de aproximadamente un 0,1 % del otro isómero.

La separación de los isómeros se puede lograr por técnicas convencionales conocidas por los expertos en la

técnica, por ejemplo, por cristalización fraccionada, cromatografía, o HPLC.

Ciertos compuestos de fórmula (I) pueden existir en una de varias formas tautómeras. Se entenderá que la presente invención engloba todos los tautómeros de los compuestos de fórmula (I) ya sea como tautómeros individuales o como mezclas de los mismos.

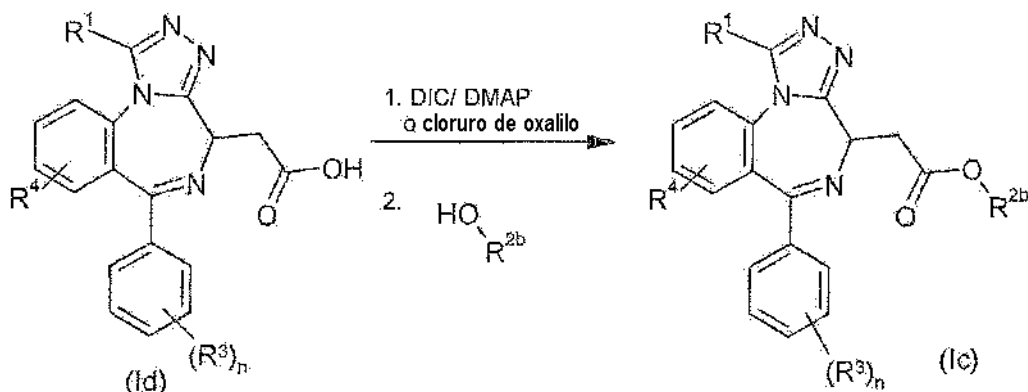
- 5 Se apreciará que lo anterior que dentro del alcance de la invención están incluidos solvatos, isómeros conformacionales y geométricos y formas polimórficas de los compuestos de fórmula (I) y sales de los mismos.

Los compuestos de fórmula (I) y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos pueden elaborarse por una diversidad de procedimientos, incluyendo química estándar. Cualquier variable definida previamente seguirá teniendo el significado definido previamente a menos que se indique de otro modo. Los procedimientos sintéticos
10 generales ilustrativos se exponen a continuación y después los compuestos de específicos de fórmula (I) y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos se preparan en los ejemplos de trabajo. Estos procedimientos forman aspectos adicionales de la presente invención.

Durante toda la memoria descriptiva, las fórmulas generales se designan con numerales romanos (I), (II), (III), (IV) etc. Subgrupos de estas fórmulas generales se definen como (Ia), (Ib), (Ic) etc.

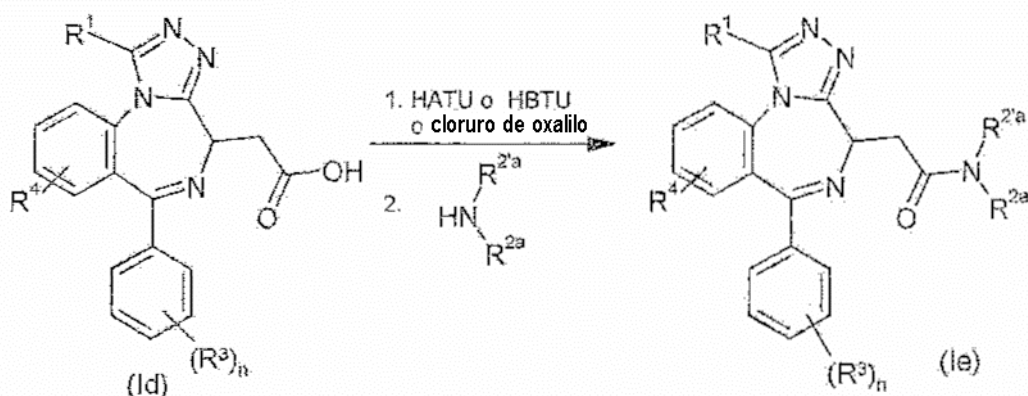
- 15 Los compuestos de fórmula (Ic), es decir los compuestos de fórmula general (I) donde R^2 es OR^{2b} , se pueden preparar de acuerdo con el esquema de reacción 1 haciendo reaccionar compuestos de fórmula (Id), es decir compuestos de fórmula general (I) donde R^2 es OH, con $R^{2b}OH$ en presencia de DIC y DMAP a temperatura ambiente. Alternativamente los compuestos de fórmula (Ic) se pueden preparar haciendo reaccionar compuestos de fórmula (Id) con cloruro de oxalilo seguido por adición de $R^{2b}OH$.

20 **Esquema 1 (Referencia)**



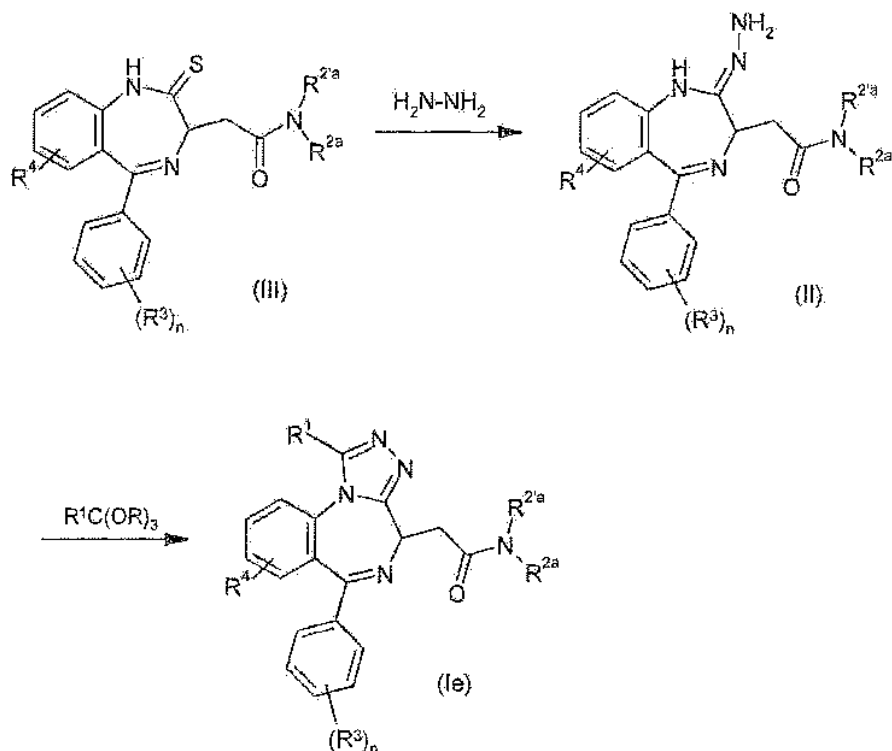
- Los compuestos de fórmula (Ie), es decir los compuestos de fórmula general (I) donde R^2 es $NR^{2a}R^{2a}$, se pueden preparar de acuerdo con el esquema de reacción 2 haciendo reaccionar compuestos de fórmula (Id), es decir compuestos de fórmula general (I) donde R^2 es OH, con $R^{2a}R^{2a}NH$ en presencia de HATU o HBTU y DIEA a temperatura ambiente. Alternativamente los compuestos de fórmula (Ie) se pueden preparar haciendo reaccionar compuestos de fórmula (Id) con cloruro de oxalilo seguido por adición de $R^{2a}R^{2a}NH$ en presencia de trietilamina.
- 25

Esquema 2



Alternativamente los compuestos de fórmula (Ie), es decir compuestos de fórmula general (I) donde R^2 es $NR^{2a}R^{2a}$, se pueden preparar de acuerdo con el esquema de reacción 3 haciendo reaccionar compuestos de fórmula (III) con hidrazina seguida por reacción de la hidrazona resultante (II) con $R^1C(OR)_3$. Preferentemente hidrazona (II) se usa sin purificación adicional y se hace reaccionar con $R^1C(OR)_3$.

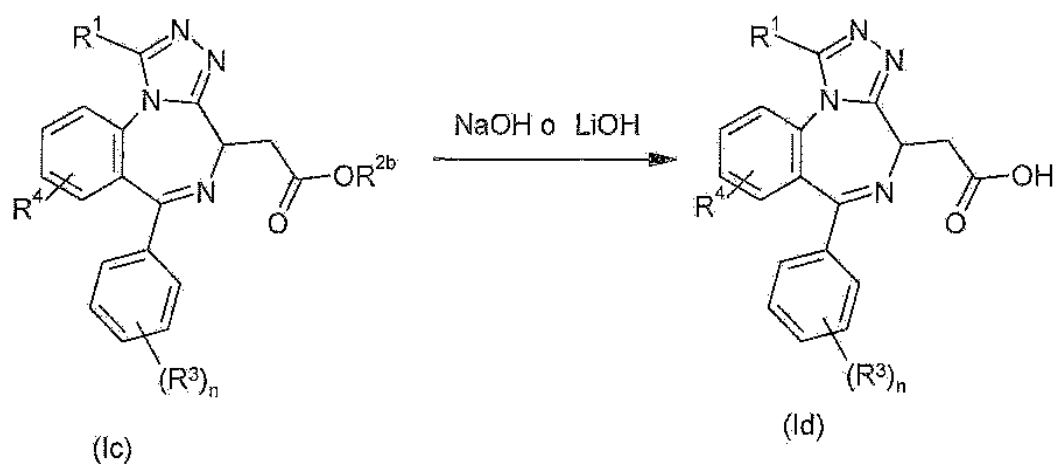
5

Esquema 3

en el que R representa alquilo C₁₋₄ tal como metilo.

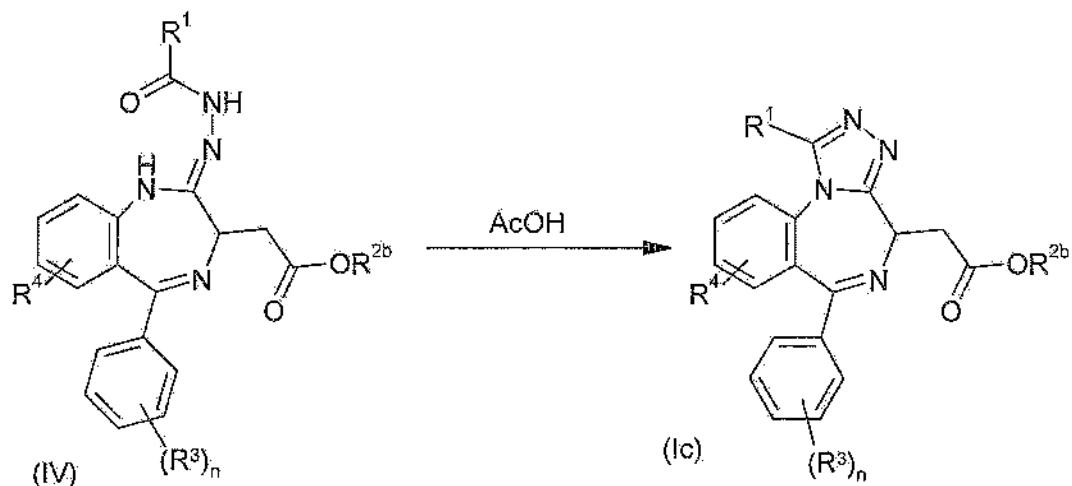
Compuestos de fórmula (Id), es decir compuestos de fórmula general (I) donde R^2 es OH, se pueden preparar de acuerdo con el esquema de reacción 4. Las condiciones de reacción adecuadas comprenden hacer reaccionar compuestos de fórmula (Ic), es decir compuestos de fórmula general (I) donde R^2 es OR^{2b} , con hidróxido alcalino preferentemente hidróxido de sodio o hidróxido de litio.

10

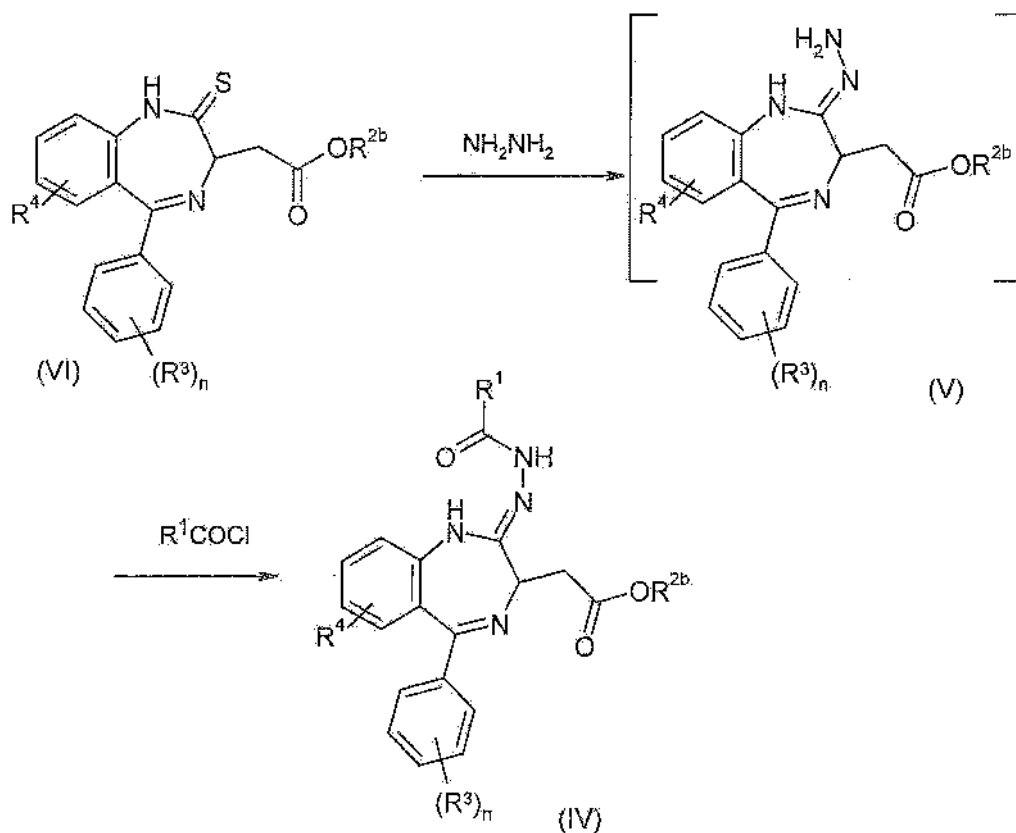
Esquema 4 (Referencia)

Compuestos de fórmula (Ic), es decir compuestos de fórmula general (I) donde R^2 es OR^{2b} se pueden preparar de acuerdo con el esquema de reacción 5 haciendo reaccionar compuestos de fórmula (IV) con AcOH.

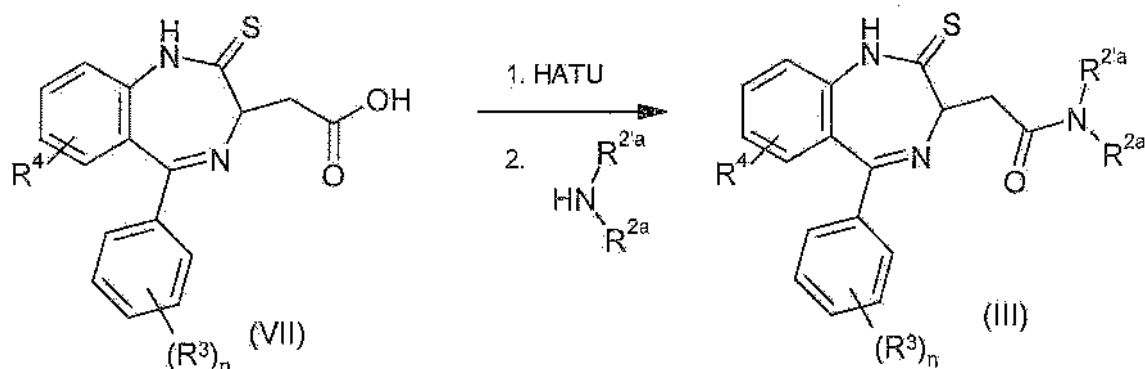
15

Esquema 5 (Referencia)

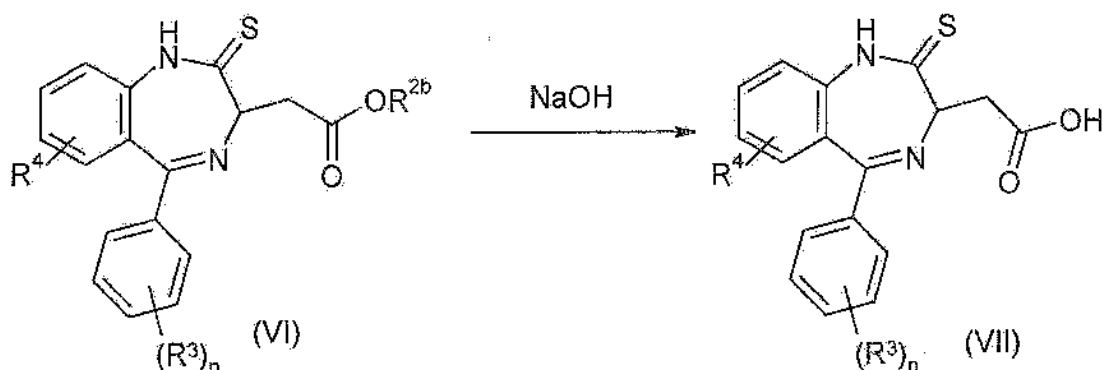
5 Compuestos de fórmula (IV) se pueden preparar de acuerdo con el esquema de reacción 6 haciendo reaccionar compuestos de fórmula (VI) con hidrazina por debajo de 15 °C seguidos por reacción de la hidrazona resultante (V) con R¹COCl a 0 °C. Generalmente se usa hidrazona (V) sin purificación adicional y se hace reaccionar con R¹COCl a, por ejemplo 0 °C.

Esquema 6

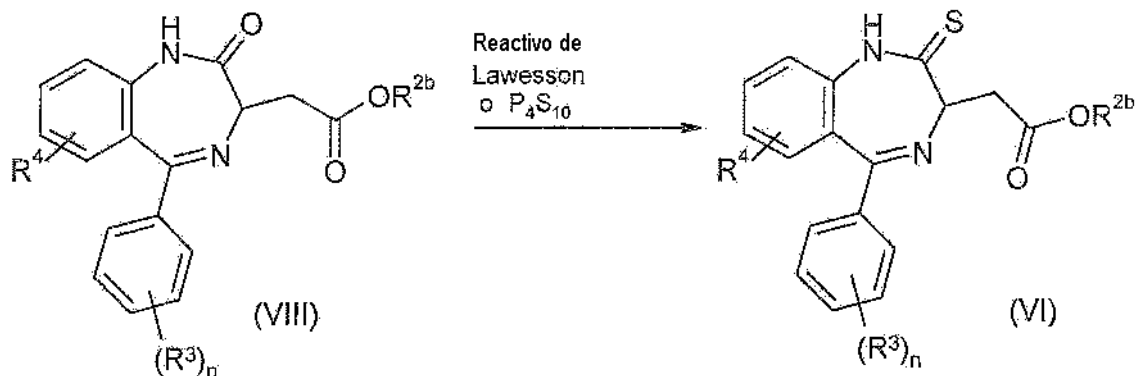
10 Compuestos de fórmula (III) se pueden preparar de acuerdo con el esquema de reacción 7 haciendo reaccionar compuestos de fórmula (VII) con R^{2a}R^{2a}NH en presencia de HATU y DIEA a, por ejemplo temperatura ambiente.

Esquema 7

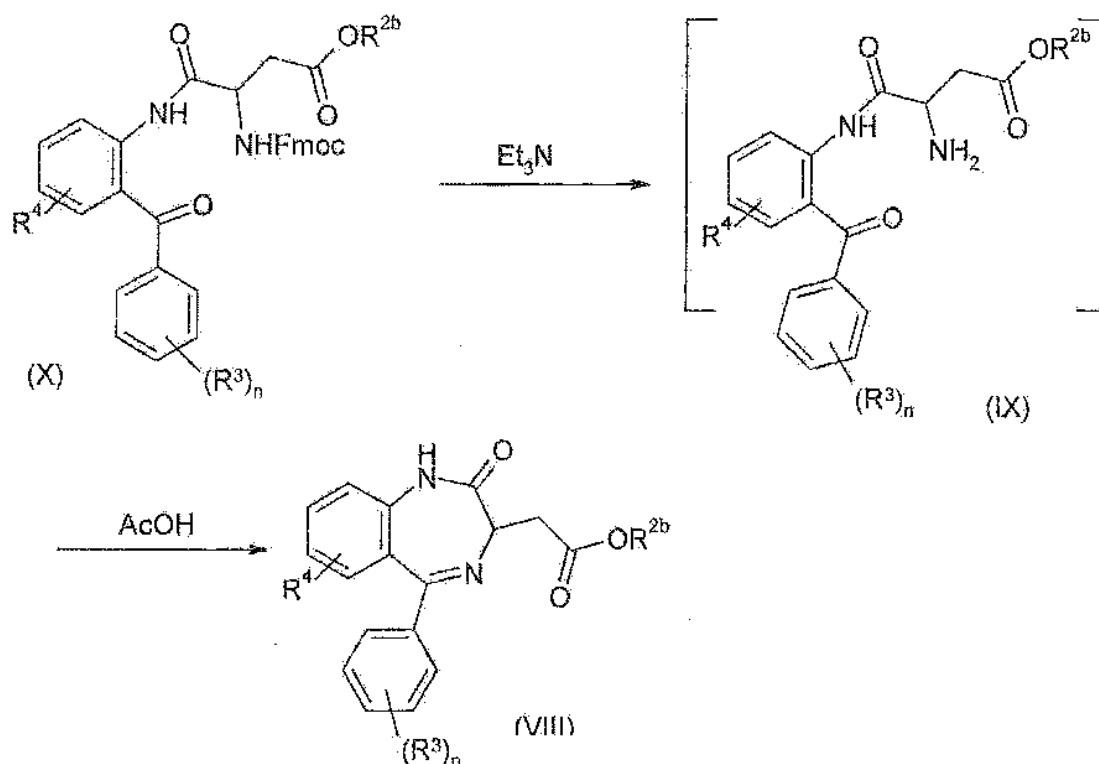
Compuestos de fórmula (VII) se pueden preparar de acuerdo con el esquema de reacción 8. Las condiciones de reacción adecuadas comprenden hacer reaccionar compuestos de fórmula (VI) con hidróxido alcalino tal como hidróxido de sodio.

Esquema 8

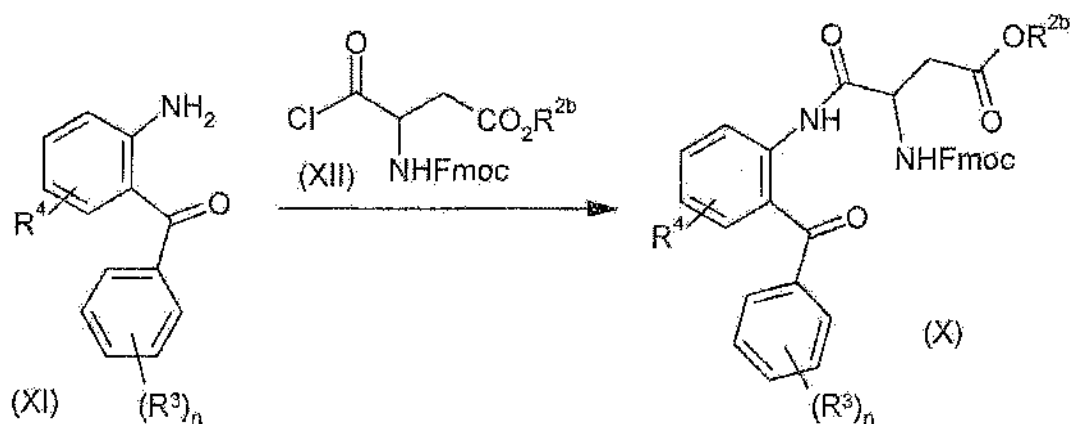
Compuestos de fórmula (VI) se pueden preparar de acuerdo con el esquema de reacción 9 a partir de compuestos de fórmula (VIII) por tratamiento con reactivo de Lawesson o P_4S_{10} . Condiciones de reacción adecuadas comprenden hacer reaccionar compuestos de fórmula (VIII) con P_4S_{10} en 1,2-dicloroetano a, por ejemplo 70 °C.

Esquema 9

Compuestos de fórmula (VIII) se pueden preparar de acuerdo con el esquema de reacción 10, haciendo reaccionar compuestos de fórmula (X) con una base orgánica tal como trietilamina seguido por reacción de la amina resultante (IX) con ácido acético. Generalmente, se usa amina (IX) sin purificación adicional y se hace reaccionar con AcOH a, por ejemplo 60 °C.

Esquema 10

Compuestos de fórmula (X) se pueden preparar de acuerdo con el esquema de reacción 11, haciendo reaccionar compuestos de fórmula (XI) con el acilcloruro (XII) derivado de ácido aspártico protegido.

5 **Esquema 11**

Compuestos de fórmula (XI) se pueden preparar de acuerdo con procedimientos descritos en Synthesis 1980, 677-688.

10 Cloruros de acilo (XII) se pueden preparar de acuerdo con procedimientos descritos en J. Org. Chem., 1990, 55, 3068-3074 y J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1, 2001, 1673-1695.

Se apreciará por los expertos en la técnica que ello puede ser ventajoso para proteger uno o más grupos funcionales de los compuestos descritos en los procedimientos anteriores. Se pueden encontrar ejemplos de grupos protectores y de los medios para su retirada en T. W. Greene 'Protective Groups in Organic Synthesis' (4ª edición, J. Wiley y Sons, 2006). Los grupos protectores de amina adecuados incluyen acilo (por ejemplo, acetilo), carbamato (por ejemplo, 2',2',2'-tricloroetoxicarbonilo, benciloxicarbonilo o t-butoxicarbonilo) y arilalquilo (por ejemplo, bencilo), que

15

se pueden retirar por hidrólisis (por ejemplo, usando un ácido tal como ácido clorhídrico en dioxano o ácido trifluoroacético en diclorometano) o de forma reductora (por ejemplo, hidrogenolisis de un grupo bencilo o benciloxicarbonilo o retirada reductora de un grupo 2',2',2'-tricloroetoxicarbonilo usando cinc en ácido acético) según sea apropiado. Otros grupos protectores de amina adecuados incluyen trifluoroacetilo ($-\text{COCF}_3$) que se puede retirar por hidrólisis catalizada por bases.

Se apreciará que en cualquiera de las rutas descritas anteriormente, se puede variar el orden preciso de las etapas sintéticas por las que varios grupos y restos se introducen en la molécula. Estará dentro de la habilidad del experto en la técnica garantizar que los grupos o restos introducidos en una fase del procedimiento no se vean afectados por las posteriores transformaciones y reacciones y seleccionar el orden de las etapas sintéticas en consecuencia. Ciertos compuestos intermedios descritos anteriormente se cree que son novedosos y que forman aspectos aún adicionales de la invención.

Los compuestos de fórmula (I) y sales de los mismos son inhibidores de bromodominio y así se cree que tienen utilidad potencial en el tratamiento de enfermedades o afecciones para las que está indicado un inhibidor de bromodominio.

La presente invención proporciona de esta manera un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en terapia. Los compuestos de fórmula (I) o sales farmacéuticamente aceptables del mismo pueden ser para su uso en el tratamiento de enfermedades o afecciones para las que está indicado un inhibidor de bromodominio.

En una realización se proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de enfermedades o afecciones para las que está indicado un antagonista de bromodominio. En otra realización, se proporciona un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de una afección autoinmune y/o inflamatoria crónica. En una realización adicional, se proporciona un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de cáncer, tal como carcinoma de la línea media.

En una realización se proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades o afecciones para las que está indicado un inhibidor de bromodominio. En otra realización, se proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en la elaboración de un medicamento para el tratamiento de una afección autoinmune y/o inflamatoria crónica. En una realización adicional, se divulga el uso de un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en la elaboración de un medicamento para el tratamiento de cáncer, tal como carcinoma de la línea media.

Como se usa en el presente documento, el término "cantidad eficaz" quiere decir una cantidad de un fármaco o agente farmacéutico que provocará la respuesta biológica o médica de un tejido, sistema, animal o humano que se está buscando, por ejemplo, por un investigador o un médico. Además, el término "cantidad terapéuticamente eficaz" quiere decir cualquier cantidad que, en comparación con un sujeto correspondiente que no ha recibido dicha cantidad, da como resultado una mejora en el tratamiento, curación, prevención o mejoría de una enfermedad, trastorno o efecto secundario, o una disminución en la tasa de avance de una enfermedad o trastorno. El término también incluye dentro de su alcance cantidades eficaces para potenciar la función fisiológica normal.

Se cree que los inhibidores de bromodominios son útiles en el tratamiento de una diversidad de enfermedades o afecciones relacionadas con inflamación sistémica o tisular, respuestas inflamatorias a infección o hipoxia, activación y proliferación celulares, metabolismo lipídico, fibrosis y en la prevención y tratamiento de infecciones víricas.

Los inhibidores de bromodominios pueden ser útiles en el tratamiento de una amplia diversidad de afecciones autoinmunes e inflamatorias tales como artritis reumatoide, osteoartritis, gota aguda, soriasis, lupus eritematoso sistémico, esclerosis múltiple, enfermedad inflamatoria del intestino (enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa), asma, enfermedad de las vías respiratorias obstructiva crónica, neumonitis, miocarditis, pericarditis, miositis, eczema, dermatitis, alopecia, vitiligo, enfermedades epidermolisis ampollosa, nefritis, vasculitis, aterosclerosis, enfermedad de Alzheimer, depresión, retinitis, uveítis, escleritis, hepatitis, pancreatitis, cirrosis biliar primaria, colangitis esclerosante, enfermedad de Addison, hipofisitis, tiroiditis, diabetes de tipo I y rechazo agudo de órganos trasplantados.

Los inhibidores de bromodominios pueden ser útiles en el tratamiento de una amplia diversidad de afecciones inflamatorias agudas tales como gota aguda, arteritis de células gigantes, nefritis incluyendo nefritis de lupus, vasculitis con implicación de órganos tal como glomerulonefritis, vasculitis incluyendo arteritis de células gigantes, granulomatosis de Wegener, poliarteritis nodosa, enfermedad de Behcet, enfermedad de Kawasaki, arteritis de Takayasu y rechazo agudo de órganos trasplantados.

Los inhibidores de bromodominios pueden ser útiles en la prevención o el tratamiento de enfermedades o afecciones que implican respuestas inflamatorias a infecciones con bacterias, virus, hongos, parásitos o sus toxinas, tales como sepsis, síndrome septicémico, choque séptico, endotoxemia, síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS), síndrome de disfunción multiorgánica, síndrome de choque tóxico, daño pulmonar agudo, ARDS (síndrome de

dificultad respiratoria del adulto), fallo renal agudo, hepatitis fulminante, quemaduras, pancreatitis aguda, síndromes post-quirúrgicos, sarcoidosis, reacciones de Herxheimer, encefalitis, mielitis, meningitis, malaria, SIRS asociada con infecciones víricas tales como gripe, herpes zóster, herpes simple y coronavirus.

5 Los inhibidores de bromodominios pueden ser útiles en la prevención o el tratamiento de afecciones asociadas con daño por isquemia-reperfusión tales como infarto de miocardio, isquemia cerebrovascular (apoplejía), síndromes coronarios agudos, daño por reperfusión renal, trasplante de órganos, injerto de derivación de la arteria coronaria, procedimientos de derivación cardiopulmonar y embolia pulmonar, renal, hepática, gastrointestinal o de miembro periférico.

10 Los inhibidores de bromodominios pueden ser útiles en el tratamiento de trastornos de metabolismo lipídico por medio de la regulación de APO-A1 tales como hipercolesterolemia, aterosclerosis y enfermedad de Alzheimer.

Los inhibidores de bromodominios pueden ser útiles en el tratamiento de afecciones fibróticas tales como fibrosis pulmonar idiopática, fibrosis renal, estenosis post-operatoria, formación de queloides, esclerodermia y fibrosis cardíaca.

15 Los inhibidores de bromodominios pueden ser útiles en la prevención y en el tratamiento de infecciones víricas tales como herpesvirus, papilomavirus humano, adenovirus, poxvirus y otros virus ADN.

Los inhibidores de bromodominios pueden ser útiles en el tratamiento de cáncer, incluyendo carcinomas hematológicos, epiteliales incluyendo carcinomas de pulmón, de mama y de colon, carcinomas de la línea media, tumores mesenquimales, hepáticos, renales y neurológicos.

20 En una realización la enfermedad o afección para la que está indicado un inhibidor de bromodominios está seleccionada de enfermedades asociadas con síndrome de respuesta inflamatoria sistémica, tal como sepsis, quemaduras, pancreatitis, traumatismo grave, hemorragia e isquemia. En esta realización el inhibidor de bromodominios se administraría en el punto de diagnóstico para reducir la incidencia de: SIRS, la aparición de choque, síndrome de disfunción multiorgánica, que incluye la aparición de daño pulmonar agudo, ARDS, daño renal, hepático, cardíaco y gastrointestinal agudo y mortalidad. En otra realización el inhibidor de bromodominios se
25 administraría antes de procedimientos quirúrgicos u otros asociados con un alto riesgo de sepsis, hemorragia, daño tisular extensivo, SIRS o MODS (síndrome de disfunción multiorgánica). En una realización particular la enfermedad o afección para la que está indicado un inhibidor de bromodominios es sepsis, síndrome septicémico, choque séptico y endotoxemia. En otra realización, el inhibidor de bromodominios está indicado para el tratamiento de pancreatitis aguda o de pancreatitis crónica en fase aguda. En otra realización el inhibidor de bromodominios está
30 indicado para el tratamiento de quemaduras.

En una realización la enfermedad o afección para la que está indicado un inhibidor de bromodominios se selecciona de infecciones y reactivaciones por herpes simple, úlceras bucales, infecciones y reactivaciones por herpes zóster, varicela, culebrilla, virus del papiloma humano, neoplasia cervical, infecciones de adenovirus, incluyendo enfermedad respiratoria aguda e infecciones de poxvirus tales como viruela del ganado y viruela y virus de la peste
35 porcina africana. En una realización particular un inhibidor de bromodominios está indicado para el tratamiento de infecciones por virus del papiloma humano de epitelio de la piel o cervical.

El término "enfermedad o afección para la que está indicado un inhibidor de bromodominios", pretende incluir cualquiera de o todos los estados de enfermedad anteriores.

40 En una realización, se proporciona un procedimiento para inhibir un bromodominio que comprende poner en contacto el bromodominio con un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Cuando sea posible que, para su uso en tratamiento, se pueda administrar un compuesto de fórmula (I), así como sales farmacéuticamente aceptables del mismo, como producto químico en bruto, es común presentar el ingrediente activo como una composición farmacéutica.

45 La presente invención por lo tanto proporciona en un aspecto adicional una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables. Los compuestos de la fórmula (I) y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos son como se describen anteriormente.

50 El vehículo o vehículos, diluyente o diluyentes o excipiente o excipientes deben ser aceptables en el sentido de ser compatibles con los otros ingredientes de la composición y no perjudicial(es) para el receptor de los mismos. De acuerdo con otro aspecto de la invención también se proporciona un procedimiento para la preparación de una composición farmacéutica que incluye mezclar un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, con uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables. La composición farmacéutica puede ser para su uso en el tratamiento de cualquiera de las afecciones descritas en el presente documento.

55 Ya que los compuestos de fórmula (I) y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos están destinados para

su uso en composiciones farmacéuticas, se entenderá fácilmente que cada uno se proporciona preferentemente en forma sustancialmente pura, por ejemplo, pura al menos en un 60%, más adecuadamente pura al menos en un 75 % y preferentemente pura al menos en un 85%, en especial pura al menos en un 98% (% en una base de peso por peso).

- 5 Las composiciones farmacéuticas se pueden presentar en formas de dosis unitaria que contienen una cantidad predeterminada de ingrediente activo por dosis unitaria. Las composiciones de dosificación unitaria preferentes son las que contienen una dosis diaria o una subdosis, o una fracción apropiada de las mismas, de un ingrediente activo. Dichas dosis unitarias se pueden administrar, por tanto, más de una vez al día. Las composiciones de dosificación unitaria son las que contienen una dosis diaria o subdosis (para su administración más de una vez al día), como se indica anteriormente en el presente documento, o una fracción apropiada de las mismas, de un ingrediente activo.

10 Las composiciones farmacéuticas se pueden adaptar para su administración por cualquier vía apropiada, por ejemplo, por la vía oral (incluyendo bucal o sublingual), rectal, inhalatoria, intranasal, tópica (incluyendo bucal, sublingual o transdérmica), vaginal o parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular, intravenosa o intradérmica). Dichas composiciones se pueden preparar por cualquier procedimiento conocido en la técnica de farmacia, por ejemplo, mezclando el ingrediente activo con el/los vehículo(s) o excipiente(s).

15 En una realización se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo adaptada para administración oral.

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

- 20 Las composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración parenteral incluyen soluciones inyectables estériles acuosas y no acuosas que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos y solutos que hacen que la composición sea isotónica con la sangre del receptor que se desee; y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes. Las composiciones se pueden presentar en recipientes de dosis unitaria o de dosis múltiple, por ejemplo, ampollas selladas y viales y se pueden almacenar en una condición secada por congelación (liofilizada) que requiere solamente la adición del vehículo líquido estéril, por ejemplo, agua para inyecciones, inmediatamente antes de su uso. Las soluciones y suspensiones de inyección sin preparación previa se pueden preparar a partir de polvos estériles, gránulos y comprimidos.

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

- 30 Por ejemplo, para la administración oral en forma de un comprimido o una cápsula, el componente de fármaco activo se puede combinar con un vehículo inerte farmacéuticamente aceptable no tóxico, oral, tal como etanol, glicerol, agua y similares. Se pueden preparar polvos adecuados para su incorporación en comprimidos o cápsulas reduciendo el compuesto a un tamaño fino adecuado (por ejemplo, por micronización) y mezclando con un vehículo farmacéutico preparado de forma similar tal como un carbohidrato comestible, como por ejemplo, almidón o manitol. También pueden estar presentes un agente saborizante, conservante, dispersante y colorante.

35 Las cápsulas se pueden fabricar preparando una mezcla en polvo, como se describe anteriormente y rellenando las cubiertas de gelatina formadas. Se pueden añadir agentes deslizantes y lubricantes tales como sílice coloidal, talco, estearato de magnesio, estearato de calcio o polietilenglicol sólido a la mezcla en polvo antes de la operación de llenado. Un agente disgregante o solubilizante tal como agar-agar, carbonato de calcio o carbonato de sodio puede también añadirse para incrementar la disponibilidad del medicamento cuando la cápsula se ingiere.

- 40 Además, cuando se desee o sea necesario, también se pueden incorporar a la mezcla aglutinantes, deslizantes, lubricantes, agentes edulcorantes, saborizantes, agentes disgregantes y agentes colorantes adecuados. Los aglutinantes adecuados incluyen almidón, gelatina, azúcares naturales tales como glucosa o beta-lactosa, edulcorantes de maíz, gomas naturales y sintéticas tales como goma arábica, goma de tragacanto o alginato de sodio, carboximetilcelulosa, polietilenglicol, ceras y similares. Los lubricantes usados en estas formas de dosificación incluyen oleato de sodio, estearato de sodio, estearato de magnesio, benzoato de sodio, acetato de sodio, cloruro de sodio y similares. Los disgregantes incluyen, sin limitaciones, almidón, metilcelulosa, agar, bentonita, goma xantana y similares. Los comprimidos se formulan, por ejemplo, preparando una mezcla en polvo, granulando o precomprimiendo, añadiendo un lubricante y disgregante y prensando en comprimidos. Se prepara una mezcla en polvo mezclando el compuesto, molido adecuadamente, con un diluyente o base como se describe anteriormente y opcionalmente, con un aglutinante tal como carboximetilcelulosa, un alginato, gelatina o polivinilpirrolidina, un retardante de solución tal como parafina, un acelerador de resorción tal como una sal cuaternaria y/o agente de absorción tal como bentonita, caolín o fosfato de dicalcio. La mezcla en polvo se puede granular por humectación con un aglutinante tal como jarabe, pasta de almidón, mucílago de goma arábica o soluciones de materiales celulósicos o poliméricos y forzándola a pasar a través de un tamiz. Como alternativa a la granulación, se puede hacer pasar la mezcla en polvo a través de una máquina compresora y el resultado son pedazos formados

- imperfectamente que se rompen en gránulos. Los gránulos se pueden lubricar para evitar que se adhieran los moldes que forman los comprimidos por medio de la adición de ácido esteárico, una sal de estearato, talco o aceite mineral. La mezcla lubricada se comprime a continuación en comprimidos. Los compuestos de la presente revelación también se pueden combinar con un vehículo inerte fluido y comprimirse en comprimidos directamente sin pasar a través de las etapas de granulación o precompresión. Se puede proporcionar un recubrimiento protector transparente u opaco que consiste en un revestimiento sellante de goma laca, un recubrimiento de azúcar o material polimérico y un recubrimiento pulido de cera. Se pueden añadir tintes a estos recubrimientos para distinguir dosificaciones unitarias diferentes.
- Se pueden preparar fluidos orales tales como solución, jarabes y elixires en forma de dosificación unitaria de modo que una cantidad dada contenga una cantidad predeterminada del compuesto. Se pueden preparar jarabes disolviendo el compuesto en una solución acuosa adecuadamente condimentada, mientras que se preparan elixires a través del uso de un vehículo alcohólico no tóxico. Se pueden formular suspensiones dispersando el compuesto en un vehículo no tóxico. También se pueden añadir solubilizantes y emulsionantes, tales como alcoholes isoestearílicos etoxilados y éteres de polioxietilensorbitol, conservantes, aditivos saborizantes tales como aceite de menta o edulcorantes naturales o sacarina u otros edulcorantes artificiales y similares.
- Cuando sea apropiado, se pueden microencapsular composiciones de unidad de dosificación para administración oral. También se puede preparar la formulación para prolongar o mantener la liberación como, por ejemplo, recubriendo o incrustando material particulado en polímeros, cera o similares.
- Los compuestos de fórmula (I) y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos también se pueden administrar en forma de sistemas de administración de liposomas, tales como vesículas unilaminares pequeñas, vesículas unilaminares grandes y vesículas multilaminares. Se pueden formar liposomas a partir de una variedad de fosfolípidos, tales como colesterol, estearilamina o fosfatidilcolinas.
- Las composiciones farmacéuticas adaptadas para administración tópica se pueden formular como pomadas, cremas, suspensiones, lociones, polvos, soluciones, pastas, geles, pulverizaciones, aerosoles o aceites.
- Para tratamientos del ojo u otros tejidos externos, por ejemplo la boca y la piel, las formulaciones se aplican preferentemente como pomada o crema tópica. Cuando se formula en una pomada, el ingrediente activo se puede emplear con una base de pomada parafínica o bien miscible con agua. De forma alternativa, el ingrediente activo se puede formular en una crema con una base de crema de aceite en agua o base de agua en aceite.
- Las composiciones farmacéuticas adaptadas para administraciones tópicas para el ojo incluyen colirios en los que el ingrediente activo se disuelve o suspende en un vehículo adecuado, en especial un disolvente acuoso.
- Las formas de dosificación para su administración nasal o inhalatoria se pueden formular convenientemente como aerosoles, soluciones, suspensiones, geles o polvos secos.
- Para composiciones adecuadas y/o adaptadas para administración inhalada, se prefiere que el compuesto de fórmula (I) o sal farmacéuticamente aceptable del mismo esté en una forma de tamaño de partícula reducido por ejemplo obtenida por micronización. El tamaño preferido de partículas del compuesto o sal de tamaño reducido (por ejemplo micronizado) se define por un valor D50 de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 10 micrómetros (por ejemplo colmo se mide usando difracción láser).
- Las formulaciones en aerosol, *por ejemplo* para administración inhalada, pueden comprender una solución o suspensión fina de la sustancia activa en un disolvente acuoso o no acuoso farmacéuticamente aceptable. Las formulaciones de aerosol pueden estar presentes en cantidades individuales o de multidosis en forma estéril en un recipiente sellado, que puede tomar la forma de un cartucho o recargarse para su uso con un dispositivo de atomización o con un inhalador. De forma alternativa el recipiente sellado puede ser un dispositivo dispensador unitario tal como un inhalador nasal de dosis individual o un dispensador de aerosol equipado con una válvula dosificadora (inhalador de dosis medida) que está destinada a desecharse una vez que se haya agotado el contenido del recipiente.
- Donde la forma de dosificación comprende un dispensador de aerosol, ello contiene preferentemente un propulsor adecuado a presión tal como aire comprimido, dióxido de carbono o un propulsor orgánico tal como un hidrofluorocarbono (HFC). Los propulsores HFC incluyen 1,1,1,2,3,3,3-heptafluoropropano y 1,1,1,2-tetrafluoroetano. Las formas de dosificación de aerosol también pueden tomar la forma de una bomba-atomizador. El alcohol presurizado puede contener una solución o una suspensión del compuesto activo. Esto puede requerir la incorporación de excipientes adicionales por ejemplo co-disolventes y/o tensioactivos para mejorar las características de dispersión y la homogeneidad de formulaciones de suspensión. Las formulaciones de solución pueden requerir también la adición de co-solventes tales como etanol.
- Para composiciones farmacéuticas adecuadas y/o adaptadas de administración inhalada, la composición farmacéutica puede ser una composición inhalable en polvo seco. Una composición tal puede comprender una base en polvo tal como lactosa, glucosa, trehalosa, manitol o almidón, el compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (preferentemente en forma reducida en tamaño de partículas, por ejemplo

en forma micronizada) y opcionalmente un modificador de realización tal como L-leucina u otro aminoácido y/o sales metálicas de ácido esteárico tales como magnesio o estearato de calcio. Preferentemente, la composición inhalable en polvo seco comprende una mezcla en polvo seco de lactosa, por ejemplo monohidrato de lactosa y el compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Tales composiciones se pueden administrar al paciente usando un dispositivo adecuado tal como el dispositivo DISKUS®, comercializado por GlaxoSmithKline que se describe por ejemplo en el documento GB 2242134 A.

Los compuestos de fórmula (I) y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos pueden formularse como una formulación fluida para administración a partir de un dispensador de fluidos, por ejemplo un dispensador de fluidos que tiene una boquilla de dispensación o un orificio de dispensación por el que una dosis medida de la formulación de fluidos se dispensa tras la aplicación de una fuerza aplicada por usuario a un mecanismo de bomba del dispensador de fluidos. Tales dispensadores de fluidos se proporcionan generalmente con un reservorio de dosis medidas múltiples de la formulación de fluidos, siendo las dosis dispensables tras las actuaciones de bomba secuenciales. La boquilla o el orificio de dispensación puede estar configurado para inserción en las narinas del usuario para dispensación por pulverizador de la formulación fluida dentro de la cavidad nasal. Un dispensador de fluidos del tipo mencionado anteriormente se describe e ilustra en el documento WO2005/044354 A1.

Una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo dependerá de varios factores incluyendo, por ejemplo, la edad y el peso del animal, la afección precisa que requiere tratamiento y su gravedad, la naturaleza de la formulación y la vía de administración y en última instancia dependerá del juicio del médico o veterinario. En la composición farmacéutica, cada unidad de dosificación para administración oral o parenteral contiene preferentemente de 0,01 a 3000 mg, más preferentemente 0,5 a 1000 mg, de un compuesto de fórmula (I) o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo calculada como la base libre. Cada unidad de dosificación para administración nasal o inhalada contiene preferentemente de 0,001 a 50 mg, más preferentemente 0,01 a 5 mg, de un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, calculada como la base libre.

Los compuestos de fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos se pueden administrar en una dosis diaria (para un paciente adulto) de, por ejemplo, una dosis oral o parenteral de 0,01 mg a 3000 mg por día o 0,5 a 1000 mg por día, o una dosis nasal o inhalada de 0,001 a 50 mg por día o de 0,01 a 5 mg por día, del compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, calculada como la base libre. Esta cantidad se puede dar en una única dosis por día o más normalmente en varias (tales como dos, tres, cuatro, cinco o seis) subdosis por día de modo que la dosis diaria total sea la misma. Una cantidad eficaz de una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos se puede determinar como una proporción de la cantidad eficaz del compuesto de fórmula (I) *per se*.

Los compuestos de fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos se pueden emplear solos o en combinación con otros agentes terapéuticos. Los tratamientos de combinación de acuerdo con la presente invención comprenden, por tanto, la administración de al menos un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y el uso de al menos uno de otro agente farmacéuticamente activo. Preferentemente, los tratamientos de combinación de acuerdo con la presente invención comprenden la administración de al menos un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y al menos uno de otro agente farmacéuticamente activo. El/los compuesto(s) de la invención y el/los otro(s) agente(s) farmacéuticamente activo(s) se pueden administrar juntos en una única composición farmacéutica o por separado y cuando se administran por separado esto se puede producir simultánea o secuencialmente en cualquier orden. Las cantidades del/de los compuesto(s) de fórmula (I) y sales farmacéuticamente aceptables de la invención y el/los otro(s) agente(s) farmacéuticamente activo(s) y los momentos de administración relativos se seleccionarán con el fin de lograr el efecto terapéutico combinado deseado. Así en un aspecto adicional, se proporciona una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente del mismo la invención y al menos uno de otro agente farmacéuticamente activo. En una realización se proporciona un producto farmacéutico de combinación que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con uno o más agentes terapéuticamente aceptables.

Así en un aspecto, los compuestos y composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención se pueden usar en combinación con o incluir uno o más de otros agentes terapéuticos, por ejemplo seleccionados de antibióticos, antivirales, glucocorticosteroides, antagonistas muscarínicos y agonistas beta-2.

Se apreciará que cuando los compuestos de la presente invención se administran en combinación otros agentes terapéuticamente activos administrados normalmente por vía inhalatoria, intravenosa, oral o intranasal, la composición farmacéutica resultante se puede administrar por las mismas vías. De forma alternativa los componentes individuales de la composición se pueden administrar por vías diferentes.

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

Quedará claro para un experto en la técnica, cuando sea apropiado, que se puede(n) usar el/los otro(s) ingrediente(s) terapéutico(s) en forma de sales, por ejemplo como sales de metal alcalino o amina o como sales de adición de ácido, o profármacos, o como ésteres, por ejemplo ésteres de alquilos inferiores, o como solvatos, por

ejemplo hidratos, para optimizar la actividad y/o estabilidad y/o características físicas, tales como solubilidad, del ingrediente terapéutico. También quedará claro, cuando sea apropiado, que los ingredientes terapéuticos se pueden usar en forma ópticamente pura.

- 5 Las combinaciones referidas anteriormente se pueden presentar convenientemente para su uso en forma de una composición farmacéutica y por tanto, las composiciones farmacéuticas que comprenden una combinación como se define anteriormente junto con un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable representan otro aspecto de la invención.

- 10 Los compuestos de fórmula (I) y sales de los mismos se pueden preparar por los procedimientos descritos más adelante o por procedimientos similares. Así los siguientes Intermedios y Ejemplos sirven para ilustrar la preparación de los compuestos de fórmula (I) y las sales de los mismos, y no han de considerarse que limiten el ámbito de la invención de ninguna manera.

Detalles experimentales generales

Todas las temperaturas referidas están en °C.

Abreviaturas

TLC	- cromatografía en capa fina
AcOH	- ácido acético
AcCl	- cloruro de acetilo
PPTS	- <i>p</i> -toluensulfonato de piridinio
DCM	- diclorometano
1,2-DCE;	- 1,2-dicloroetano
DIC	- di-isopropilcarbodiimida
DIEA	- <i>N,N</i> -diisopropiletilamina
DMF	- <i>N,N</i> -dimetil-formamida
DMAP	- 4-dimetilaminopiridina
Fmoc	- 9 <i>H</i> -fluoren-9-ilmetil)oxi]carbonilo
HATU	- hexafluorofosfato de <i>O</i> -(7-azabenzotriazol-1-il)- <i>N,N,N',N'</i> -tetrametiluronio
HBTU	- hexafluorofosfato de <i>O</i> -(benzotriazol-1-il)- <i>N,N,N',N'</i> -tetrametiluronio
Et ₂ O	- dietiléter
EtOAc	- acetato de etilo
<i>i</i> -PR ² O	- diisopropiléter
Config.	- configuración absoluta
Reactivo de Lawesson	- reactivo 2,4-bis-(4-metoxifenil)-1,3-ditia-2,4-difosfetan-2,4-disulfuro
MeCN:	- acetonitrilo
MeOH	- metanol
Tr	- tiempo de retención
THF	- tetrahidrofurano
TA	- temperatura ambiente
Pd/C	- paladio sobre carbón
COMU	- hexafluorofosfato de 1-ciano-2-etoxi-2-oxoetilidenamino)dimetilamino-morfolino-carbenio

- 15 **CL/EM** se refiere a los análisis mediante HPLC analítica que se condujeron en dos tipos de aparatos:
- a) Sobre una columna Supelcosil LCABZ+PLUS (3 µm, 3,3 cm x 4,6 mm de DI) eluyendo con HCO₂H al 0,1 % y acetato de amonio 0,01 M en agua (disolvente A) y acetonitrilo al 95 % y HCO₂H al 0,05 % en agua (disolvente B), usando el siguiente gradiente de elución: de 0 a 0,7 minutos con el 0 % de B, de 0,7 a 4,2 minutos con 0 → 100 % de B, de 4,2 a 5,3 minutos con el 100 % de B, de 5,3 a 5,5 minutos con 100 → 0 % de B, a un caudal de 3 ml/minuto. Los espectros de masas (EM) se registraron en un espectrómetro de masas Fisons VG Platform, usando los modos de ionización positiva por electropulverización [(ES+ve para dar los iones moleculares [M+H]⁺ y [M+NH₄]⁺) o ionización negativa por electropulverización [(ES-ve para dar el ion molecular [M-H]⁻]. Los datos analíticos de este aparato se dan con el siguiente formato: [M+H]⁺ o [M-H]⁻.
- 20 b) Sobre una columna Cromolith Performance RP 18 (100 x 4,6 mm de DI) eluyendo con acetato de amonio 0,01 M en agua (disolvente A) y acetonitrilo al 100 % (disolvente B), usando el siguiente gradiente de elución: de 0 a 4 minutos con 0 → 100 % de B, de 4 a 5 minutos con el 100 % de B a un caudal de 5 ml/minuto. Los espectros de masas (EM) se registraron en un espectrómetro de masas Micromass Platform-LC usando los modos de ionización positiva química a presión atmosférica [AP+ve para dar los iones moleculares MH⁺] o ionización negativa química a presión atmosférica [AP-ve para dar los iones moleculares (M-H)⁻]. Los datos analíticos de este aparato se dan con el siguiente formato: [M+H]⁺ o [M-H]⁻ precedido por el acrónimo APCI para especificar entre ambas fuentes de análisis de espectrometría de masas.
- 25 c) En una columna Acquity UPLC BEH C18 (di 2,1 mm x 50 mm, 1,7 µm de diámetro de empaquetado) a 40 °C,
- 30

eluyendol con solución al 0,1 % v/v de ácido fórmico en agua (sistema disolvente A) y solución al 0,1 % v/v de ácido fórmico en acetonitrilo (sistema disolvente B). El gradiente empleado era:

Tiempo (minutos)	Caudal (ml/min.)	Sistema disolvente	
		% de A	% de B
0	1	97	3
1,5	1	0	100
1,9	1	0	100
2,0	1	97	3

- 5 El sistema de detección por UV fue una señal promediada de 210 nm a 350 nm de longitud de onda y los espectros de masas se registraron en un espectrómetro de masas usando ionización por electropulverización en modo de barrido alternativo positivo y negativo.

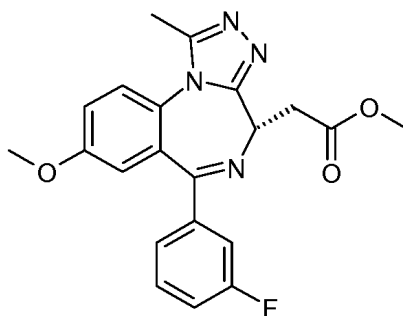
10 CL/HRMS: La HPLC analítica se llevó a cabo sobre una columna Uptisphere-hsc (3 μ m, 33 x 3 mm de DI), eluyendo con acetato de amonio 0,01 M en agua (disolvente A) y acetonitrilo al 100 % (disolvente B), usando el siguiente gradiente de elución: de 0 a 0,5 minutos con el 5 % de B, de 0,5 a 3,75 minutos con 5 $\rightarrow$ 100 % de B, de 3,75 a 4,5 minutos con el 100 % de B, de 4,5 a 5 minutos con 100 $\rightarrow$ 5 % de B, de 5 a 5,5 minutos con el 5 % de B, a un caudal de 1,3 ml/minuto. Los espectros de masas (EM) se registraron en un espectrómetro de masas Micromass LCT usando los modos de ionización positiva por electropulverización [ES+ve para dar los iones moleculares MH⁺] o ionización negativa por electropulverización [ES-ve para dar los iones moleculares (M-H)⁻].

15 HPLC de auto-preparación dirigida a la masa se refiere al procedimiento en el que el material se purificó mediante cromatografía líquida de alto rendimiento sobre una columna HPLCABZ+ de 5 μ m (5 cm x 10 mm de DI) con HCO₂H al 0,1 % en agua y MeCN al 95 %, agua al 5 % (HCO₂H al 0,5 %) usando las siguientes condiciones de elución en gradiente: de 0 a 1,0 minutos con el 5 % de B, de 1,0 a 8,0 minutos con 5 $\rightarrow$ 30 % de B, de 8,0 a 8,9 minutos con el 30 % de B, de 8,9 a 9,0 minutos con 30 $\rightarrow$ 95 % de B, de 9,0 a 9,9 minutos con el 95 % de B, de 9,9 a 10 minutos con 95 $\rightarrow$ 0 % de B, a un caudal de 8 ml/minuto. El colector de fracciones Gilson 202 se disparó mediante un espectrómetro de masas VG Platform al detectar la masa de interés.

25 RMN de protones Los espectros de (RMN de ¹H) se registraron a temperatura ambiente en un espectrómetro Bruker Avance 300 DPX usando un disolvente como el patrón interno y los cambios químicos de protones se expresan en ppm en el disolvente indicado. Las siguientes abreviaturas se usan para la multiplicidad de señales de RMN: s = singlete, d = doblete, t = triplete, c = cuadruplete, dd = doble doblete, m = multiplete.

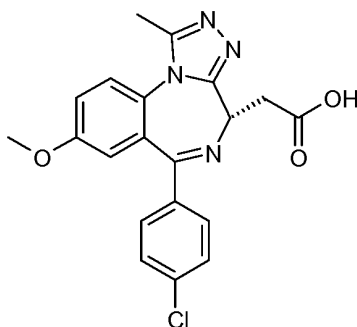
TLC (cromatografía en capa fina) se refiere al uso de las placas de TLC comercializadas por Merck recubiertas con gel de sílice 60 F254.

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



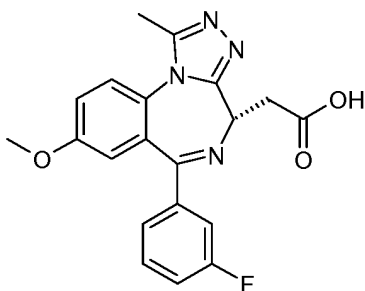
30 El intermedio 5 en bruto (supuestos 9,3 mmol) se suspendió en una mezcla de THF y AcOH (1/1) y se agitó durante toda una noche antes de concentrarse a presión reducida. La solución en bruto se suspendió en DCM y se lavó con solución de NaHCO₃ saturada. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró *in vacuo* y el sólido resultante se trituró en i-Pr₂O y se filtró. El producto en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida en gel de sílice (DCM/Me- OH: 95/5) dando el compuesto del título que se usará en la siguiente etapa sin purificación adicional. CL/EM: m/z 395 [M+H]⁺, Tr 2,71 min.

Intermedio 2: ácido [(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]acético



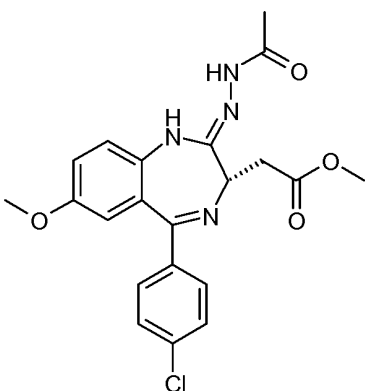
5 A una solución de Ejemplo 34 (28 g, 68 mmol) en THF (450 ml) a TA se añadió NaOH 1 N (136 ml, 136 mmol). La mezcla de reacción se agitó a esta temperatura durante 5 h antes de enfriarse y desactivarse con HCl 1 N (136 ml). Se eliminó THF a presión reducida y se extrajo la fase acuosa con DCM. Las fases orgánicas combinadas se
 10 secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El sólido en bruto se recrystalizó en CH₃CN para dar el compuesto del título (23,9 g, rendimiento del 89 %) como un sólido pálido amarillo. RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 7,55-7,48 (m, 2H), 7,41 (d, J = 8,9 Hz, 1H), 7,38-7,31 (m, 2H), 7,22 (dd, J = 2,9 y 8,9 Hz, 1H), 6,90 (d, J = 2,9 Hz, 1H), 4,59 (dd, J = 6,9 y 6,9 Hz, 1H), 3,81 (s, 3H), 3,70 (dd, J = 6,9 y 25,7 Hz, 1H), 3,61 (dd, J = 6,9 y 25,7 Hz, 1H), 2,63 (s, 3H). CL/EM: m/z 397 [M(³⁵Cl)+H]⁺, Tr 2,11 min. Intermedio 3 de fórmula (Ib), es decir compuestos de
 10 fórmula general (I) donde R² es OH se preparó por procedimientos análogos a aquel descrito para intermedio 2 partiendo de intermedio 1 y usando dioxano en vez de THF como disolvente.

Intermedio 3: ácido [(4S)-6-(3-fluorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]acético



CL/EM: m/z 381 [M+H]⁺, Tr 2,08 min.

15 Intermedio 4: [(3S)-2-[(1Z)-2-acetilhidrazino]-5-(4-clorofenil)-7-(metiloxi)-3H-1,4-benzodiazepin-3-il]acetato de metilo

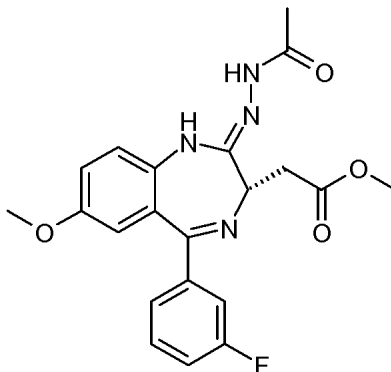


20 A una suspensión de intermedio 6 (30,2 g, 77,7 mmol) en THF (800 ml) a 0 °C se añadió monohidrato de hidrazina (11,3 ml, 233 mmol) gota a gota. La mezcla de reacción se agitó durante 4 h entre 0 °C y 15 °C antes de enfriarse a 0 °C. Se añadió después lentamente Et₃N (32,4 ml, 230 mmol) y se añadió gota a gota AcCl (16,3 ml, 230 mmol). La mezcla se dejó calentar a TA y se agitó durante 1 h después se desactivó con agua y se concentró a presión reducida. La fase acuosa resultante se extrajo después con DCM y la fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró *in vacuo* para dar el compuesto del título en bruto (34 g, rendimiento del 100 %) que se usó sin purificación adicional. CL/EM: m/z 429 [M(³⁵Cl)+H]⁺, Tr 2,83 min.

25 El procedimiento descrito anteriormente podría aplicarse igualmente a la forma racémica de Intermedio 6 para dar el producto en forma racémica.

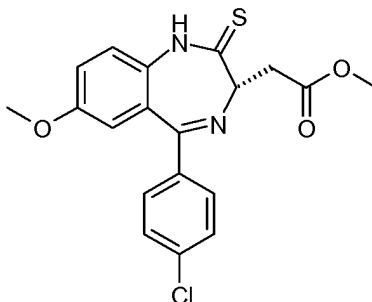
El intermedio 5 se preparó por procedimientos análogos a aquel descrito para el intermedio 4 empezando a partir del intermedio 7.

Intermedio 5: [(3S)-2-[(1Z)-2-acetilhidrazino]-5-(3-fluorofenil)-7-(metiloxi)-3H-1,4-benzodiazepin-3-il]acetato de metilo



5 CL/EM: m/z 413 [M+H]⁺, Tr 2,66 min.

Intermedio 6: [(3S)-5-(4-clorofenil)-7-(metiloxi)-2-tioxo-2,3-dihidro-1H-1,4-benzodiazepin-3-il]acetato de metilo

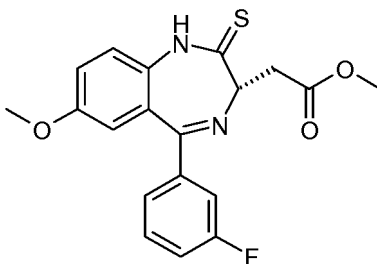


Una suspensión de P₄S₁₀ (85,8 g, 190 mmol) y Na₂CO₃ (20,5 g, 190 mmol) en 1,2-DCE (1,5 l) a TA se agitó durante 1 h antes de añadirse Intermedio 9 (40 g, 107 mmol). La mezcla resultante se agitó a 65°C durante 4 horas antes de enfriarse y filtrarse. El sólido se lavó dos veces con DCM y el filtrado se lavó con NaHCO₃ saturado. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró a presión reducida. El compuesto del título se precipitó a partir de una mezcla de DCM/Pr₂O y se filtró. El filtrado se concentró y se purificó después por cromatografía ultrarrápida (DCM/MeOH : 98/2) para proporcionar otro lote de producto. El compuesto del título se obtuvo combinando las dos fracciones (30,2 g, al 73 %) como un polvo amarillo. CL/EM: m/z 389 [M(³⁵Cl)+H]⁺, Tr 3,29 min.

15 Alternativamente, el intermedio 9 podrían hacerse reaccionar con el reactivo de Lawesson (0,6 equiv.) en tolueno sometido a reflujo para dar el compuesto del título como una mezcla racémica.

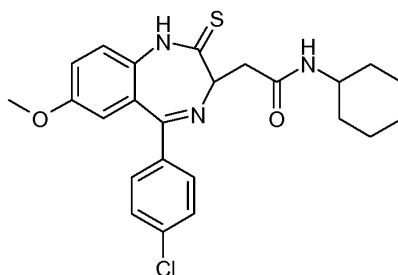
El intermedio 7 se preparó por procedimientos análogos a aquellos descritos para el intermedio 6 empezando a partir del intermedio 10.

Intermedio 7: [(3S)-5-(3-fluorofenil)-7-(metiloxi)-2-tioxo-2,3-dihidro-1H-1,4-benzodiazepin-3-il]acetato de metilo



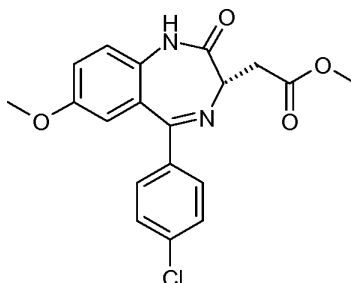
20 CL/EM: m/z 373 [M+H]⁺, Tr 3,11 min.

Intermedio 8: 2-[5-(4-clorofenil)-7-(metiloxi)-2-tioxo-2,3-dihidro-1H-1,4-benzodiazepin-3-il]-N-ciclohexilacetamida



A una solución de intermedio 11 (500 mg, 1,3 mmol) en THF (50 ml) a TA se añadió DIEA (0,35 ml, 2,0 mmol) seguido por HATU (760 mg, 2,0 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 5 minutos antes de que se añadiera ciclohexilamina (0,23 ml, 2,0 mmol). La mezcla se agitó durante 30 horas y se añadieron con agitación 0,5 equiv. Adicionales de HATU, DIEA y ciclohexilamina. La fase orgánica se lavó con NaOH 1 N. La fase acuosa se extrajo con DCM (x2) y los productos orgánicos se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron *in vacuo*. El sólido en bruto se purificó después por cromatografía ultrarrápida en gel de sílice para dar el compuesto del título (420 mg, al 62 %) como una espuma amarilla. R_f = 0,68 (DCM/MeOH : 90/10). CL/EM: m/z 456 [M(³⁵Cl)+H]⁺, Tr 3,11 min.

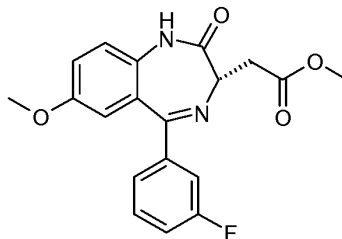
Intermedio 9: [(3S)-5-(4-clorofenil)-7-(metiloxi)-2-oxo-2,3-dihidro-1H-1,4-benzodiazepin-3-il]acetato de metilo



A una solución del intermedio 12 en bruto (supuestos 0,2 mol) en DCM (500 ml) se añadió Et₃N (500 ml, 3,65 mol) y la mezcla resultante se sometió a reflujo durante 24 h antes de concentrarse. La amina en bruto resultante se disolvió en 1,2-DCE (1,5 l) y se añadió cuidadosamente AcOH (104 ml, 1,8 mol). La mezcla de reacción se agitó después a 60 °C durante 2 h antes de que se concentre al vacío y se disuelva en DCM. La fase orgánica se lavó con HCl 1N y la fase acuosa se extrajo con DCM (x3). Se lavaron las capas orgánicas combinadas dos veces con agua y salmuera, después se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El sólido en bruto se recristalizó en MeCN conduciendo al compuesto del título (51 g) como un sólido amarillo pálido. El filtrado podría concentrarse y recristalizarse en MeCN para dar otros 10 g del intermedio 9 (total: 61 g, rendimiento del 69 % en base al intermedio 12 recuperado). R_f = 0,34 (DCM/MeOH : 95/5). CL/EM : m/z 373 [M(³⁵Cl)+H]⁺, Tr 2,76 min.

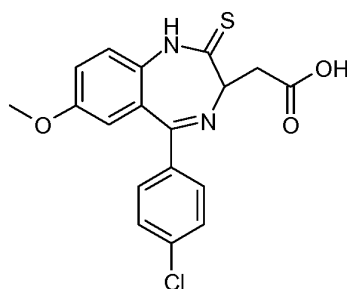
El intermedio 10 se preparó por procedimientos análogos a aquel descrito para el intermedio 9 empezando a partir del intermedio 13.

Intermedio 10: [(3S)-5-(3-fluorofenil)-7-(metiloxi)-2-oxo-2,3-dihidro-1H-1,4-benzodiazepin-3-il]acetato de metilo



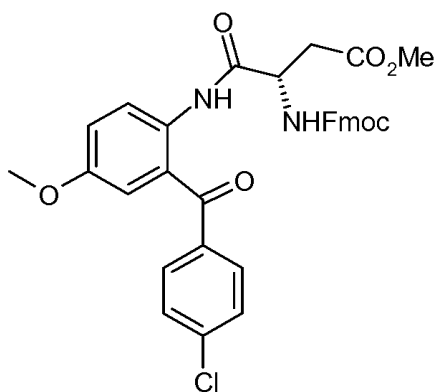
CL/EM: m/z 357 [M+H]⁺, Tr 2,83 min.

Intermedio 11: Ácido [5-(4-clorofenil)-7-(metiloxi)-2-tioxo-2,3-dihidro-1H-1,4 benzodiazepin-3-il]acético



A una solución de intermedio 6 racémico (2.6 g, 6,7 mmol) en 1,4-dioxano (70 ml) a TA se añadió lentamente NaOH 1 N (13,5 ml) y la mezcla de reacción se agitó durante toda una noche antes de añadir otro NaOH 1 N (13,5 ml). La mezcla se agitó después adicionalmente durante 2 horas antes de que se retirara 1,4-dioxano *al vacío*. La fase acuosa se acidificó con HCl 1 N a alrededor de pH 6 y se extrajo con DCM. Los compuestos orgánicos se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron a presión reducida para dar el compuesto del título (1,9 g, rendimiento al 76 %) como un sólido amarillo. CL/EM: m/z 375 [M(³⁵Cl)+H]⁺, Tr = 1,6 min.

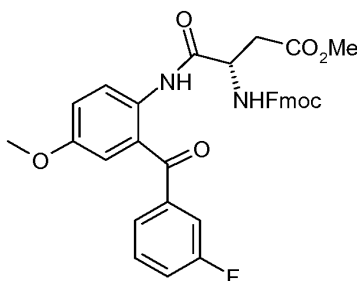
Intermedio 12: N¹-[2-[(4-clorofenil)carbonil]-4-(metiloxi)fenil]-N²-{[(9H-fluoren-9-ilmetil)oxi]carbonil}-L-α-asparaginato de metilo



Una mezcla de cloruro de N-{[(9H-fluoren-9-ilmetil)oxi]carbonil}-L-α-aspartato (preparada a partir de J. Org. Chem. 1990, 55, 3068-3074 y J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1 2001, 1673-1695) (221 g, 0,57 mol) e intermedio 14 (133 g, 0,5 mol) en CHCl₃ (410 ml) se agitó a 60 °C durante 1, 5 horas antes de enfriarse y concentrarse a presión reducida sin purificación adicional. CL/EM: m/z 613 [M(³⁵Cl)+H]⁺, Tr = 3,89 min.

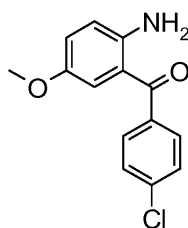
El intermedio 13 se preparó por procedimientos análogos a aquel descrito para intermedio 12 comenzando a partir de cloruro de N-{[(9H-fluoren-9-ilmetil)oxi]carbonil}-L-α-aspartato (preparado a partir de J. Org. Chem. 1990, 55, 3068-3074 y J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1 2001, 1673-1695) y (2-amino-5-metoxi-fenil)-(3-fluoro-fenil)-metanona (Synthesis 1980, 677-688).

Intermedio 13: N¹-[2-[(3-fluorofenil)carbonil]-4-(metiloxi)fenil]-N²-{[(9H-fluoren-9-ilmetil)oxi]carbonil}-L-α-asparactinato de metilo



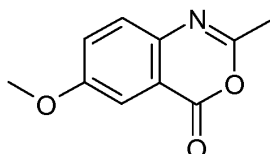
CL/EM: m/z 597 [M+H]⁺, Tr 3,75 min.

Intermedio 14: [2-amino-5-(metiloxi)fenil](4-clorofenil)metanona



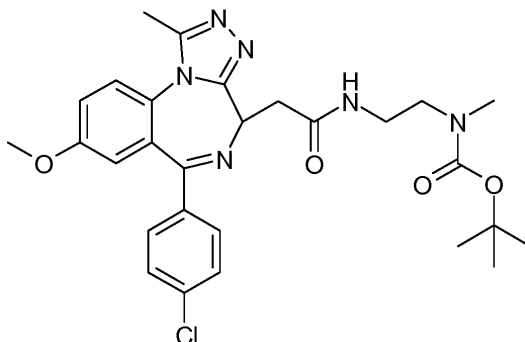
A una solución de intermedio 15 (40,0 g, 0,21 mol) en una mezcla de tolueno (560 ml)/éter (200 ml) a 0 °C se añadió gota a gota solución de bromuro de 4-clorofenilmagnesio (170 ml, 1M en Et₂O, 0,17 mol). La mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 1 h, antes de que se inactivase con HCl 1 N. La fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x) y los productos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El compuesto en bruto se disolvió después en EtOH (400 ml) y se añadió HCl 6N (160 ml). La mezcla de reacción se sometió a reflujo durante 2 horas antes de concentrarse a presión reducida. El sólido resultante se filtró y se lavó dos veces con éter antes de suspenderse en EtOAc y se neutralizó con NaOH 1N. La fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x) y los productos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El compuesto del título se obtuvo como un sólido amarillo (39 g, rendimiento al 88 %) que se usó sin purificación adicional.

Intermedio 15: 2-metil-6-(metiloxi)-4H-3,1-benzoxazin-4-ona



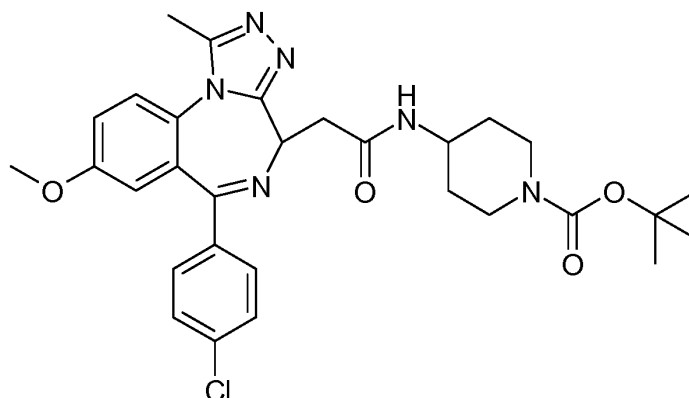
Una solución de ácido 5-metoxiantranílico (7,8 g, 46,5 mmol) se sometió a reflujo en anhídrido acético (60 ml) durante 2 horas 15 minutos antes de enfriarse y concentrarse a presión reducida. El residuo en bruto se concentró después dos veces en presencia de tolueno antes de cargarse y lavarse con éter para proporcionar el compuesto del título (6,8 g, rendimiento del 77 %) como un sólido beige; CL/EM: m/z 192 [M+H]⁺, Tr 1,69 min.

Intermedio 16 [2-({[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]acetil}amino)etil]metilcarbamato de 1,1-dimetiletilo



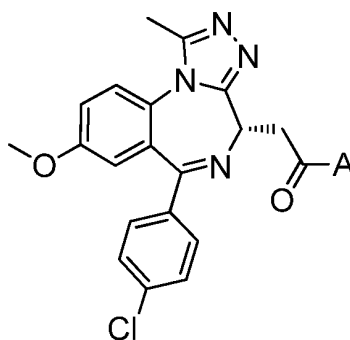
Se disolvieron intermedio 2 (104 mg, 0,262 mmol), 1,1-dimetiletil(2-aminoetil)metilcarbamato (0,049 ml, 0,275 mmol), HATU (120 mg, 0,314 mmol) y DIPEA (0,055 ml, 0,629 mmol) en DMF (2,5 ml) y se agitaron a 50 °C en N₂ durante toda una noche. La reacción se dejó enfriar la mañana siguiente, después el DMF se evaporó al vacío y el aceite en bruto se fraccionó entre EtOAc y solución de bicarbonato de sodio saturada. La fase orgánica se lavó con salmuera acuosa saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se evaporó al vacío para dar un aceite incoloro. La purificación del residuo por cromatografía ultrarrápida en gel de sílice (gradiente de DCM-metanol 0,5 al 10 %) dio el compuesto del título como un aceite amarillo (189 mg, 0,342 mmol, rendimiento al 130 %). CL/EM (M(³⁵Cl)+H)⁺ 553, (M(³⁷Cl)+H)⁺ 555; Tr 1,07 min.

Intermedio 17: [4-({[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]acetil}amino)-1-piperidinacarboxilato de 1,1-dimetiletilo



Se disolvieron intermedio 2 (100 mg, 0,252 mmol), (4-amino-1-piperidinacarboxilato de 1,1-dimetiletilo (0,054 ml, 0,265 mmol), HATU (115 mg, 0,302 mmol) y DIPEA (0106 ml, 0,605 mmol) en DMF (2,5 ml) y se agitaron a 50 °C en N₂ durante toda una noche. La reacción se dejó enfriar la mañana siguiente, después el DMF se evaporó al vacío y el aceite en bruto se fraccionó entre EtOAc y solución de bicarbonato de sodio saturada. La fase orgánica se lavó con salmuera acuosa saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se evaporó al vacío para dar un aceite incoloro. La purificación del residuo por cromatografía ultrarrápida en gel de sílice (gradiente de DCM-metanol 0,5 al 10 %) dio el compuesto del título como un aceite amarillo (165 mg, 0,285 mmol, rendimiento al 113 %). CL/EM (M(³⁵Cl)+H)+ 579, (M(³⁷Cl)+H)+ 581; Tr 1,11 min.

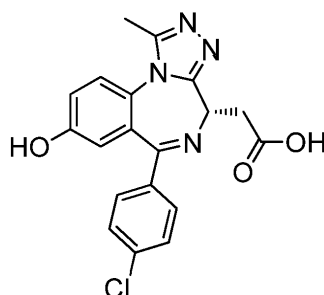
Los Intermedios 18-21 se prepararon a partir del intermedio 2 y la amina apropiada usando el procedimiento descrito en el intermedio 17.



Intermedio	A	Espectr. de masas (M(³⁵ Cl)+H) ⁺ , (M(³¹ Cl)+H) ⁺	Tr (minutos)
18		593, 585	1,18
19		579, 581	1,09
20		551, 553	1,07
21		551, 553	1,04

CL/EM se llevó a cabo usando aparato c).

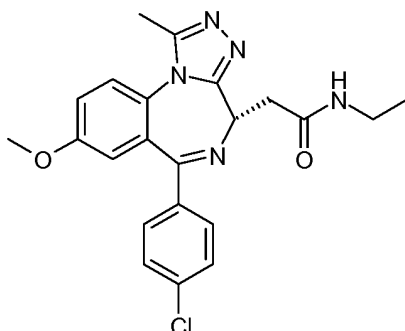
Intermedio 22: ácido [(4S)-6-(4-clorofenil)-8-hidroxi-1-metil-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]acético



Una solución de intermedio 2 (400 mg, 1 mmol) en DCM (8 ml) se enfrió a -78 °C. Una solución de tribromuro de boro (1,26 g, 476 ml, 5 mmol) en diclorometano (2 ml) se añadió lentamente. La mezcla de reacción se agitó a -78 °C durante 30 minutos en nitrógeno se dejó después calentarse a TA y se agitó durante 4 horas. La mezcla de reacción se vertió sobre hielo/agua (~100 ml) y la fase orgánica se separó. La fase acuosa se extrajo con DCM (2 x 10 ml). La fase acuosa se evaporó hasta sequedad. El residuo se extrajo con MeOH (3 x 10 ml) y la fase orgánica combinada se evaporó y el residuo se re-evaporó a partir de tolueno (x2) para dar el compuesto del título como un sólido amarillo (383 mg, 1,0 mmol, rendimiento al 99 %). CL/EM (M(³⁵Cl)+H)+ 383, (M(³⁷Cl)+H)+ 385 ; Tr 0,73 minutos (usando aparato c de CL/EM)).

Ejemplos

Ejemplo 1 (Referencia): 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]-N-etil-acetamida



A una solución de intermedio 2 (16,0 g, 40 mmol) en THF (50 ml) a TA se añadió DIEA (14 ml, 80 mmol) seguido por HATU (30,4 g, 80 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 3 horas a esta temperatura y se añadió etilamina (40 ml, 2M in THF, 80 mmol). La mezcla se agitó durante 48 h antes de concentrarse a presión reducida. El material en bruto se suspendió en agua y se extrajo con DCM. Se secó la fase orgánica sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró a vacío. El sólido en bruto se purificó por cromatografía en SiO₂ (DCM/MeOH 95/5) y el sólido resultante se recrystalizó en MeCN. El sólido se disolvió después en DCM y se precipitó con i-Pr₂O para dar el compuesto del título (8 g, rendimiento del 47 %) como un sólido blanco.

R_f = 0,48 (DCM/MeOH : 90/10). Pf >140 °C (llega a ser gomoso). RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 7,53-7,47 (m, 2H), 7,39 (d, J = 8,9 Hz, 1H), 7,37-7,31 (m, 2H), 7,20 (dd, J = 2,9 y 8,9 Hz, 1H), 6,86 (d, J = 2,9 Hz, 1H), 6,40 (m, 1H), 4,62 (m, 1H), 3,80 (s, 3H), 3,51 (dd, J = 7,3 y 14,1 Hz, 1H), 3,46-3,21 (m, 3H), 2,62 (s, 3H), 1,19 (t, J = 7,3 Hz, 3H). CL/EM : m/z 424 [M(³⁵Cl)+H]⁺, Tr 2,33 min.

Los ejemplos 2 a 24 es decir compuestos de fórmula general (I) donde R² es NR^{2a}R^{2a}, (véase Tabla 1) se prepararon por procedimientos análogos a aquellos descritos para el Ejemplo 1 a partir del intermedio 2 usando la amina apropiada. El intermedio 3 se usó en lugar de intermedio 1 para ejemplos 23 y 24. Los Ejemplos 2 a 5 y los Ejemplos 6 a 24 son compuestos de referencia.

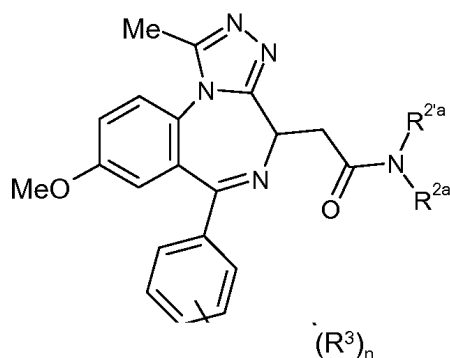


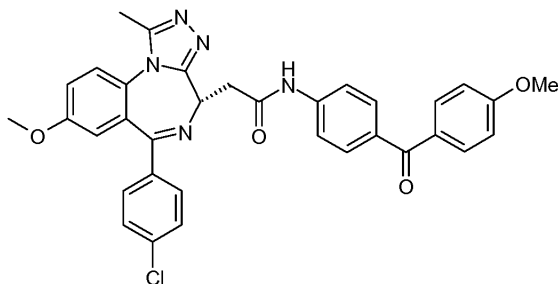
Tabla 1

Ej.	R ³	Config.	R ^{2a}	R ^{2,a}	Datos físicos
2	4-Cl	(R,S)		H	CL/EM: m/z 500 [M(³⁵ Cl)+H] ⁺ , Tr 2,78 min.
Ej.	R ³	Config.	R ^{2a}	R ^{2,a}	Datos físicos
3	4-Cl	(R,S)	-(CH ₂) ₅ -		CL/HRMS (M+H) ⁺ calc. para C ₂₅ H ₂₆ ³⁵ ClN ₅ O ₂ 464,1853; hallado 464,1846. Tr 2,68 min.
4	4-Cl	(R,S)		H	CL/HRMS (M+H) ⁺ calc. para C ₂₅ H ₂₂ ³⁵ ClN ₅ O ₃ 476,1489; hallado 464,1741. Tr 2,56 min.
5	4-Cl	(R,S)		H	CL/HRMS (M+H) ⁺ calc. para C ₂₅ H ₁₈ ³⁵ ClF ₃ N ₅ O ₂ 478,1258; hallado 478,1256. Tr 2,60 min.
6	4-Cl	(R,S)		H	CL/HRMS (M+H) ⁺ calc. para C ₂₅ H ₂₆ ³⁵ ClF ₃ N ₅ O ₃ 480,1845; hallado 480,1830. Tr 2,37 min.
7	4-Cl	(R,S)	-(CH ₂) ₂ -O-(CH ₂) ₂ -		CL/EM m/z 466 [M(³⁵ Cl)+H] ⁺ , Tr 2,66 min.
8	4-Cl	(R,S)		H	CL/HRMS (M+H) ⁺ calc. para C ₂₈ H ₂₄ ³⁵ ClN ₅ O ₄ 530,1595; hallado 530,1578. Tr 2,67 min. Pf 255 °C
9	4-Cl	(S)		H	CL/EM m/z 490 [M(³⁵ Cl)+H] ⁺ , Tr 3,15 min. Pf 264 °C
10	4-Cl	(S)		H	CL/EM m/z 490 [M(³⁵ Cl)+H] ⁺ , Tr 3,25 min. Pf 248 °C
11	4-Cl	(S)		H	CL/HRMS (M+H) ⁺ calc. para C ₂₆ H ₂₁ ³⁵ ClN ₅ O ₂ 490,1448; hallado 490,1399. Tr 2,81 min. Pf 246 °C
12	4-Cl	(S)		H	CL/EM m/z 473 [M(³⁵ Cl)+H] ⁺ , Tr 2,96 min.
13	4-Cl	(S)		H	CL/EM m/z 473 [M(³⁵ Cl)+H] ⁺ , Tr 2,75 min. Pf > 180 °C
14	4-Cl	(S)		H	CL/HRMS (M+H) ⁺ calc. para C ₂₅ H ₂₁ ³⁵ ClN ₆ O ₂ 473,1493; hallado 473,1419. Tr 2,41 min. Pf 223 °C
15	4-Cl	(S)		H	CL/HRMS (M+H) ⁺ calc. para C ₂₃ H ₁₉ ³⁵ ClN ₆ O ₂ S 479,1057; hallado 479,1050. Tr 2,58 min. Pf 249 °C

(continuación)

Ej.	R3	Config.	R2a	R2,a	Datos físicos
16	4-Cl	(S)		H	CL/HRMS (M+H) ⁺ calc. para C ₂₄ H ₂₄ ³⁵ ClN ₅ O ₂ 450,1697; hallado 450,1613. Tr 2,50 min. Pf 128 °C
17	4-Cl	(S)		H	CL/EM m/z 500 [M(³⁵ Cl)+H] ⁺ , Tr 2,73 min.
18	4-Cl	(S)		H	CL/EM m/z 500 [M(³⁵ Cl)+H] ⁺ , Tr 4,23 min.
19	4-Cl	(S)		H	CL/EM m/z 513 [M(³⁵ Cl)+H] ⁺ , Tr 3,33 min.
20	4-Cl	(S)		H	CL/HRMS (M+H) ⁺ calc. para C ₃₅ H ₂₄ ³⁵ ClN ₅ O ₃ 574,1648; hallado 574,1616. Tr 3,05 min.
21	4-Cl	(S)		H	CL/EM m/z 576 [M(³⁵ Cl)+H] ⁺ , Tr 3,42 min.
22	4-Cl	(S)		H	CL/EM m/z 590 [M(³⁵ Cl)+H] ⁺ , Tr 3,20 min.
23	3-F	(S)		H	CL/EM m/z 408 [M(³⁵ Cl)+H] ⁺ , Tr 2,50 min.
24	3-F	(S)		H	CL/EM m/z 474 [M(³⁵ Cl)+H] ⁺ , Tr 3,01 min.

Ejemplo 25 (Referencia): 2-(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4- il]-N-[4-(4-metoxibenzoil)fenil]acetamida



5

10

15

A una solución de intermedio 2 (1 g, 2,5 mmol) en THF a 0 °C se añadió gota a gota cloruro de oxalilo (1,26 ml, 2,0 M en DCM, 2,5 mmol). DMF (1 ml) se añadió gota a gota y la mezcla de reacción se agitó durante 1 h antes de que se añadiera 1 equiv. adicional de cloruro de oxalilo. La mezcla de reacción se agitó durante otra hora. Una décima parte de la última solución se añadió después a una solución de (4-aminofenil)[4-(metiloxi)fenil]metanona (50 mg, 0,22 mmol) y Et₃N en THF. La mezcla se agitó durante toda una noche antes de desactivarse con NaOH 1 N. La fase acuosa se extrajo con EtOAc y los compuestos orgánicos se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron *in vacuo*. El producto en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida en gel de sílice (DCM después DCM/MeOH : 95/5) y el sólido se trituró en i-Pr₂O para dar el compuesto del título (38 mg, rendimiento del 26 %) como un polvo ocre. CL/EM: m/z 606 [M(³⁵Cl)+H]⁺, Tr 3,41 min. Los ejemplos 26 a 29 de referencia es decir compuestos de fórmula general (I) donde R²⁶ es NR^{2a}R^{2a}, (véase Tabla 2) se prepararon por procedimientos análogos al descrito para el Ejemplo 25 usando la amina apropiada.

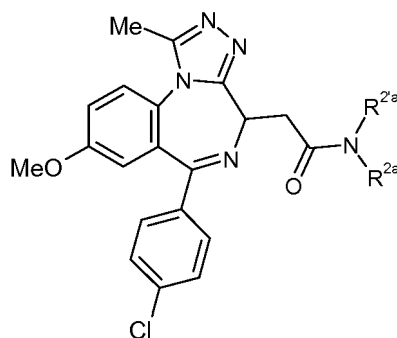
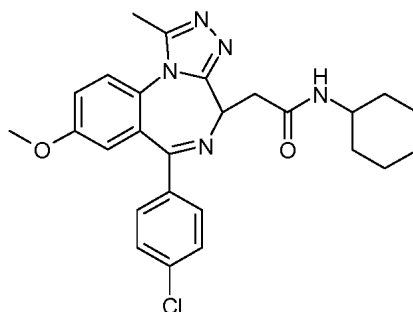


Tabla 2

Ej.	Config.	R ^{2a}	R ^{2,a}	Datos físicos
26	(R,S)		H	CL/HRMS (M+H) ⁺ calc. para C ₂₄ H ₂₈ ³⁵ ClN ₆ O ₂ 467,1962; hallado 467,1964. Tr 2,60 min.
27	(S)		H	CL/EM m/z 574 [M(³⁵ Cl)+H] ⁺ , Tr 3,66 min.
28	(S)		H	CL/EM m/z 702 [M(³⁵ Cl)+H] ⁺ , Tr = 3,78 min.
29	(S)		H	CL/EM m/z 702 [M(³⁵ Cl)+H] ⁺ , Tr 3,79 min.

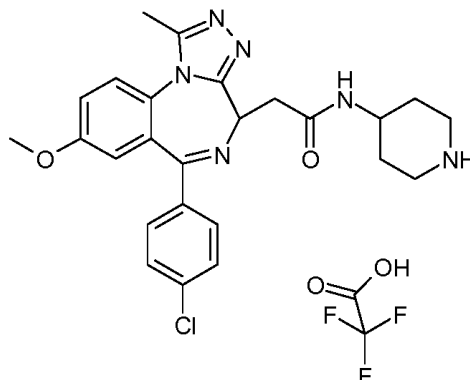
Ejemplo 30 (Referencia): 2-[6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4.3-a][1.4]benzodiazepin-4-il]-N-ciclohexilacetamida



A una solución de intermedio 8 (420 mg, 0,9 mmol) en MeOH (40 ml) a 0 °C se añadió monohidrato de hidrazina (0,22 ml, 4,6 mmol). Después de 15 minuto a 0 °C, la mezcla de reacción se dejó calentar a TA durante 1 hora y 2,5 equivalentes adicionales de hidrato de hidrazina antes de calentarse a 40 °C durante 15 min. La mezcla se concentró después a medio volumen y se añadió agua. La fase acuosa se extrajo con DCM (x2) y los productos orgánicos se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron *in vacuo*. El producto en bruto se disolvió después en MeOH (30 ml) y trimetilortoacetato (0,17 ml, 1,3 mmol) y PPTS (45 mg, 0,18 mmol) se añadieron. La mezcla de reacción se sometió a reflujo durante 45 minutos antes de concentrarse a presión reducida. La mezcla en bruto se disolvió en DCM y se lavó con agua, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró *in vacuo*. El sólido en bruto se purificó después por cromatografía en gel de sílice para dar el compuesto del título (70 mg, rendimiento del

16 % a lo largo de dos etapas) como un sólido blanco. $R_f = 0,5$ (DCM/MeOH : 90/10). $Pf > 260$ °C. LC/HRMS (M+H)+ calculated for $C_{26}H_{23}^{35}ClN_5O_2$ 478.2010; found 478.1968. Tr 2,76 minutos.

Ejemplo 39 (Referencia): Sal de ácido trifluoroacético de 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolor[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]-N-4-piperidinilacetamida

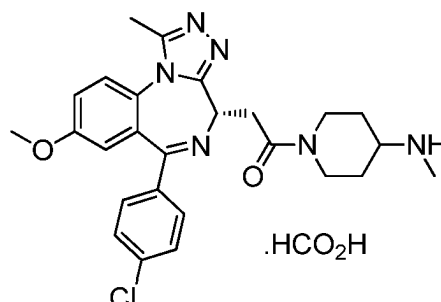


5

Intermedio 17 (165 mg, 0,285 mmol) y ácido trifluoroacético (0,022 ml, 0,285 mmol) se disolvieron en DCM (3 ml) y se agitaron a 25 °C en N_2 durante 2 h. El disolvente se evaporó al vacío y el residuo obtenido en DCM y re-evaporado a vacío dando un aceite amarillo que se secó en condiciones de alto vacío para proporcionar el compuesto del título como un sólido amarillo (161 mg, 0,272 mmol, rendimiento al 95 %). CL/EM (M(^{35}Cl)+H)+ 479, (M(^{37}Cl)+H)+ 481 ; Tr 0,73 min.

10

Ejemplo 40 (Referencia): Sal de ácido fórmico de 1-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxil)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-illacetil]-N-metil-4-piperidinamina



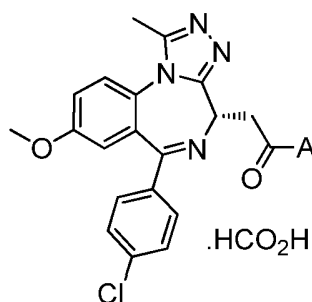
Se añadió TFA (0,5 ml, 6,49 mmol) a una solución de intermedio 18 (142 mg, 0,239 mmol) en DCM (2 ml) a 25 °C en N_2 y la mezcla se agitó durante 2 horas. El disolvente se evaporó a vacío dando un residuo amarillo que se disolvió en MeOH (1 ml) y se purificó por autopreparación dirigida a masas para dar el compuesto del título como un sólido color crema (81 mg, 0,150 mmol, rendimiento al 62,8 %) CL/EM (M(^{35}Cl)+H)+ 493, (M(^{37}Cl)+H)+ 495 ; Tr 0,76 minutos (usando aparato c de CL/EM)).

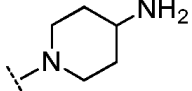
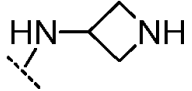
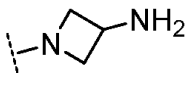
15

Ejemplos 41 a 43 (Referencia)

Los ejemplos 41 a 43 se prepararon por un procedimiento análogo al descrito para el ejemplo 40 empezando a partir del intermedio protegido apropiadamente.

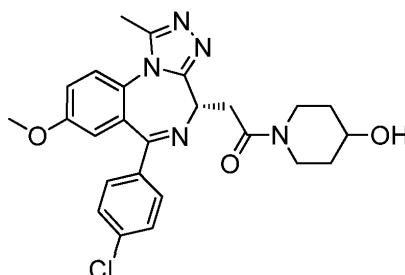
20



Ejemplo	Nombre	A partir del intermedio	A	Espectro de masas (M(³⁵ Cl)+H) ⁺ , (M(³⁷ Cl)+H) ⁺	Tr (minutos)
41	(S)-1-(4-aminopiperidin-1-il)-2-(6-(4-clorofenil)-8-metoxi-1-metil-4H-benzo[f][1,4]diazepin-4-il)etanona	19		479, 481	0,75
42	(S)-1-(4-acetidin-3-il)-2-(6-(4-clorofenil)-8-metoxi-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-4-il)acetamida	20		451, 453	0,73
43	(S)-1-(3-aminoacetidin-1-il)-2-(6-(4-clorofenil)-6-metoxi-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]diazepin-4-il)etanona	21		451, 453	0,73

CL/EM se llevó a cabo usando aparato c).

Ejemplo 44 (Referencia): (S)-2-(6-(4-clorofenil)-8-metoxi-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-4-il)-1-(4-hidroxipiperidin-1-il)etanona



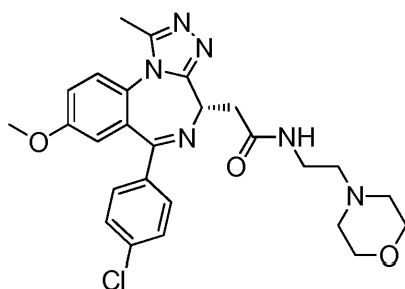
5

El ejemplo 44 se preparó por un procedimiento análogo a aquel descrito para el intermedio 17 empezando a partir del intermedio 2 y la amina apropiada.

CL/HRMS (M(³⁵Cl) +H)⁺, (M(³⁷Cl)+H)⁺; encontrado 480, 482. Tr 0,86 minutos (usando aparato c de CL/EM)).

Ejemplo 45: 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]-N-[2-(4-morfolinil)etil]acetamida

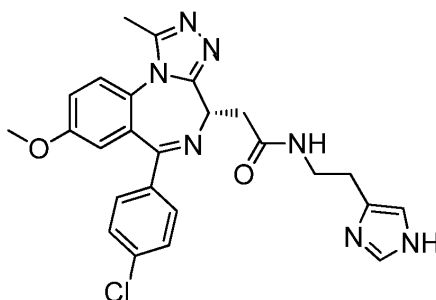
10



15

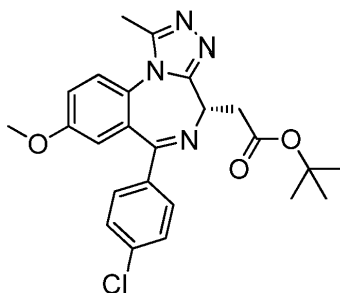
Se disolvieron intermedio 2 (104 mg, 0,262 mmol), [2-(4-morfolinil)etil]amina (0,036 ml, 0,275 mmol), COMU (135 mg, 0,314 mmol) y DIPEA (0,055 ml, 0,314 mmol) en DMF (3 ml) y se agitó a 25 °C durante toda una noche. El disolvente se evaporó dando un aceite naranja que se fraccionó entre DCM y solución de bicarbonato de sodio acosa saturada. La mezcla se separó en una frita hidrófoba y la fase clorada se evaporó al vacío para dar un aceite naranja que se purificó por cromatografía ultrarrápida en gel de sílice (gradiente de DCM-MeOH 5-20 %) para dar el compuesto del título como un sólido naranja (64 mg, 0,126 mmol, rendimiento del 48,0 %). CL/EM (M(³⁵Cl)+H)⁺ 509, (M(³⁷Cl)+H)⁺ 511; Tr 0,77 minutos (usando aparato c de CL/EM)).

(Referencia) a)[1,4]benzodiazepin-4-il]-N-[2-(1H-imidazol-4-il)etil]acetamida



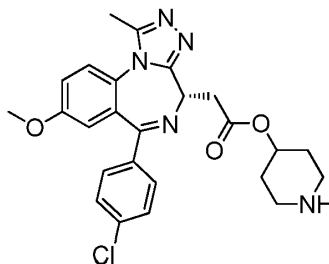
Se disolvieron intermedio 2 (104 mg, 0,262 mmol), histamina (30,6 mg, 0,275 mmol), COMU (135 mg, 0,314 mmol) y DIPEA (0,055 ml, 0,314 mmol) en DMF (3 ml) y se agitaron a 25 °C durante toda una noche. Se añadieron más histamina (30,6 mg, 0,275 mmol) y COMU (135 mg, 0,314 mmol) y DIPEA (0,055 ml, 0,314 mmol) y la reacción se agitó durante 6 horas adicionales permitiendo después reposar a TA durante 56 horas. El disolvente se evaporó dando un aceite naranja que se fraccionó entre DCM y solución de bicarbonato de sodio acosa saturada. La mezcla se separó en una frita hidrófoba y la fase clorada se evaporó al vacío para dar un aceite amarillo que se purificó por cromatografía ultrarrápida en gel de sílice (gradiente de DCM-MeOH 5-20 %) para dar el compuesto del título como un sólido blanco (66 mg, 0,135 mmol, rendimiento del 51,4 %). CL/EM (M(³⁵Cl)+H)+ 490; Tr 0,74 minuto (usando aparato c de CL/EM)).

Ejemplo 47 (Referencia): (S)-terc-butil-2-(6-(4-clorofenil)-8-metoxi-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-4-il)acetato



Se añadió cloruro de oxalilo (0,114 ml, 1,298 mmol) a una solución fría (0 °C) del intermedio 2 (103 mg, 0,260 mmol) en DCM (2 ml) en N₂. Se añadió después DMF (0,020 ml, 0,260 mmol) y la reacción se dejó calentar a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla de cloruro ácido en bruto se vertió en una solución de terc-butanol (0,124 ml, 1,298 mmol) en DCM (2 ml) y base de Hunig (0,045 ml, 0,260 mmol) se añadió y agitó durante 10 minutos. Después se añadió más terc-butanol (1 ml) y la solución se agitó durante 1 h. La mezcla de reacción se evaporó y se redisolvió en terc-butanol (1 ml) dos veces más, después el disolvente se evaporó un tiempo final para dar un sólido amarillo. La purificación del sólido por cromatografía ultrarrápida en gel de sílice (gradiente de ciclohexano-acetato de etilo 10 al 50%) dio el compuesto del título como un aceite amarillo (25 mg, 0,055 mmol, rendimiento al 21,27 %). RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,50 (d, J=9 Hz, 2 H), 7,39 (d, J=9 Hz, 1 H), 7,20 (dd, J=9, 3 Hz, 1 H), 7,33 (s, 2 H), 6,89 (d, J=3 Hz, 1 H), 4,56 (dd, J=8, 6 Hz, 1 H), 3,81 (s, 3 H), 3,24 - 3,71 (m, 2 H), 2,62 (s, 3 H), 1,50 (s, 9 H). CL/EM (M(³⁵Cl)+H)+ 453, (M(³⁷Cl)+H)+ 455; Tr 1,19 minutos (usando aparato c de CL/EM)).

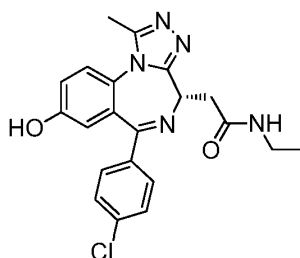
Ejemplo 48 (Referencia): (S)-piperidin-4-il-2-(6-(4-clorofenil)-8-metoxi-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-4-il)acetato



El intermedio 2 (103 mg, 0,260 mmol), 4-hidroxi-1-piperidinacarboxilato de 1,1-dimetiletilo (0,101 ml, 0,389 mmol), EDC (74,6 mg, 0,389 mmol) y DMAP (6,34 mg, 0,052 mmol) se disolvieron en DCM (2 ml) a TA en N₂ y la mezcla de reacción permitió agitar durante toda una noche. La mezcla de reacción se desactivó con solución de bicarbonato de sodio acuoso y la mezcla se filtró por una frita hidrófoba y la fase clorada se evaporó al vacío para dar un residuo amarillo. La purificación del sólido por cromatografía ultrarrápida en gel de sílice (gradiente de DCM-MeOH 5-20 %) dio el compuesto del título como un aceite incoloro que se usó inmediatamente en la reacción siguiente.

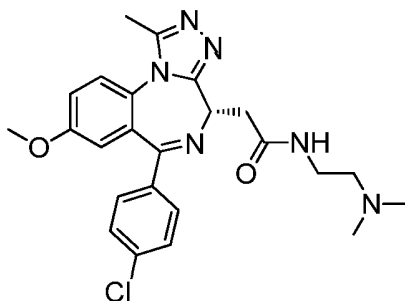
El aceite incoloro (157 mg, 0,271 mmol) y ácido trifluoroacético (0,022 ml, 6,49 mmol) se disolvieron en DCM (3 ml) y se agitaron a 0°C en N₂ y la mezcla se dejó calentar a TA durante 1 h. El disolvente se evaporó al vacío y el residuo obtenido en DCM y re-evaporado a vacío dando un aceite amarillo que se secó en condiciones de alto vacío para proporcionar el compuesto del título como un sólido amarillo (50 mg, 0,095 mmol, rendimiento al 35 %). RMN de ¹H (400 MHz, MeOH- d₄) δ 8,49 (s, 1 H), 7,66 (d, J=9 Hz, 1 H), 7,47 (d, J=9 Hz, 2 H), 7,23 - 7,41 (m, 3 H), 6,85 (s, 1 H), 5,04 (s.a., 1 H), 4,57 (t, J=7 Hz, 1 H), 3,77 (s, 3 H), 3,51 (d, J=7 Hz, 2 H), 3,28 (s.a., 2 H), 3,17 (s.a., 2 H), 2,59 (s, 3 H), 2,07 (s.a., 2 H), 1,93 (s.a., 2 H). CL/EM (M(³⁵Cl)+H)⁺ 480; Tr 0,78 min. (usando aparato c de CL/EM)).

Ejemplo 49 (Referencia): 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-8-hidroxi-1-metil-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]-N-etilacetamida



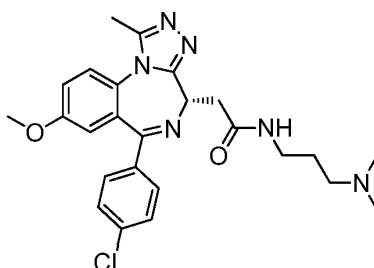
Se disolvieron intermedio 22 (383 mg, 1,00 mmol), clorhidrato de etilamina (163 mg, 2,0 mmol), HATU (457 mg, 1,20 mmol) y DIPEA (0,349 ml, 2,0 mmol) en DMF (3 ml) y se agitaron a 25 °C durante toda una noche. Se añadieron más clorhidrato de etilamina (163 mg, 2,0 mmol) y DIPEA (0,349 ml, 2,0 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 2 h adicionales. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (20 ml) y se lavó con bicarbonato de sodio saturado acuoso (10 ml, agua y salmuera). La fase orgánica se secó y se evaporó al vacío. La purificación del residuo por cromatografía ultrarrápida en gel de sílice (gradiente de DCM-metanol 10 al 20%) dio el compuesto del título como un sólido blanquecino (200 mg, 0,488 mmol, rendimiento al 49 %). CL/EM (M(³⁵Cl)+H)⁺ 410, (M(³⁷Cl)+H)⁺ 412 ; Tr 0,76 minutos (usando aparato c de CL/EM)).

Ejemplo 50 (Referencia): Sal de ácido fórmico de 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]-N-[2-(dimetilamino)etil]acetamida



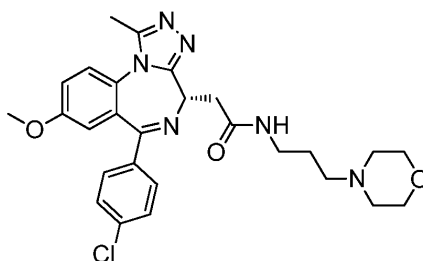
Se disolvieron intermedio 2 (105 mg, 0,265 mmol), N,N-dimetil-1,2-etanodiamina (0,071 ml, 0,278 mmol), COMU (136 mg, 0,318 mmol) y DIPEA (0,116 ml, 0,661 mmol) en DMF (3 ml) y se agitó a 25 °C. En adición de amina se volvió naranja y se dejó agitar a TA durante toda una noche. El disolvente se evaporó dando un aceite amarillo que se fraccionó entre DCM y solución de bicarbonato de sodio acuosa saturada. La mezcla se separó en una frita hidrófoba y la fase clorada se evaporó al vacío para dar un aceite amarillo que se disolvió en MeOH (1 ml) y se purificó por autopreparación dirigida de masas para dar el compuesto del título como un sólido blanco (48 mg, 0,094 mmol, rendimiento del 35,4 %). RMN de ¹H (400 MHz, Metanol-d₄) δ 8,40 (s.a., 1 H), 7,70 (d, J=9 Hz, 1 H), 7,52 (d, J=9 Hz, 2 H), 7,26 - 7,45 (m, 3 H), 6,87 (s, 1 H), 4,62 (t, J=7 Hz, 1 H), 3,65 (s, 3H), 3,65 - 3,92 (m, 3 H), 3,32 - 3,55 (m, 3 H), 3,24 (s.a., 1 H), 2,90 (s, 6 H), 2,62 (s, 3 H). CL/EM (M(³⁵Cl)+H)⁺ 467, (M(³⁷Cl)+H)⁺ 469 ; Tr 0,76 minutos (usando aparato c de CL/EM)).

Ejemplo 51 (Referencia): Sal 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]-N-[3-(dimetilamino)propil]acetamida de ácido fórmico



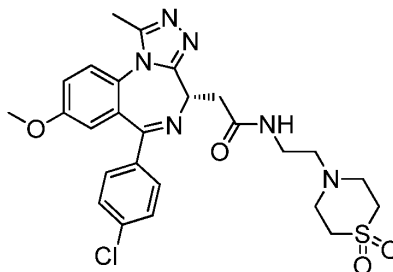
Se disolvieron intermedio 2 (100 mg, 0,252 mmol), [2-(4-morfolinil)etil]amina (0,036 ml, 0,265 mmol), HATU (115 mg, 0,302 mmol) y DIPEA (0,106 ml, 0,605 mmol) en DMF (3 ml) y se agitaron a 25 °C durante toda una noche. El disolvente se evaporó dando un aceite amarillo que se fraccionó entre DCM y solución de bicarbonato de sodio acosa saturada. La mezcla se separó en una frita hidrófoba y la fase clorada se evaporó al vacío para dar un aceite amarillo que se disolvió en MeOH (1 ml) y se purificó por autopreparación dirigida de masas para dar el compuesto del título como un sólido blanco (95 mg, 0,180 mmol, rendimiento del 71,5 %). RMN de ^1H (400 MHz, Metanol- d_4) δ 8,41 (s.a., 1 H), 7,74 (d, J=9 Hz, 1 H), 7,56 (d, J=9 Hz, 2 H), 7,37 - 7,46 (m, 3 H), 6,91 (d, J=3 Hz, 1 H), 4,66 (t, J=7 Hz, 1 H), 3,83 (s, 3 H), 3,35 - 3,57 (m, 3 H), 3,28 - 3,18 (m, 4 H), 2,87 (s, 6 H), 2,66 (s, 3 H), 1,89 - 2,09 (m, 2 H). CL/EM ($M(^{35}\text{Cl})+H$)+ 481, ($M(^{37}\text{Cl})+H$)+ 483; Tr 0,79 minutos (usando aparato c de CL/EM)).

Ejemplo 52: 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]-N-[3-(4-morfolinil)propil]acetamida



Se disolvieron intermedio 2 (150 mg, 0,378 mmol), [3-(4-morfolinil)propil]amina (57,2 mg, 0,397 mmol), HATU (172 mg, 0,454 mmol) y DIPEA (0,158 ml, 0,907 mmol) en DMF (3 ml) y se agitó a 25 °C durante toda una noche. El disolvente se evaporó dando un aceite amarillo que se fraccionó entre DCM y solución de bicarbonato de sodio acosa saturada. La mezcla se separó en una frita hidrófoba y la fase clorada se evaporó al vacío para dar un aceite amarillo. La purificación por cromatografía ultrarrápida en gel de sílice (gradiente de DCM-metanol 5 al 20%) dio el compuesto del título como un sólido color crema pálido (77 mg, 0,147 mmol, rendimiento al 38,9 %). RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7,54 (t, J=5 Hz, 1 H), 7,42 (d, J=9 Hz, 2 H), 7,19 - 7,37 (m, 3 H), 7,13 (dd, J=9, 3 Hz, 1 H), 6,78 (d, J=3 Hz, 1 H), 4,58 (t, J=7 Hz, 1 H), 3,73 (s, 3 H), 3,66 (t, J=5 Hz, 3 H), 3,36 - 3,48 (m, 2 H), 3,22 - 3,36 (m, 3 H), 2,46 - 2,76 (m, 4 H), 2,17 - 2,46 (m, 5 H), 1,56 - 1,85 (m, 2 H). CL/EM ($M(^{35}\text{Cl})+H$)+ 523, ($M(^{37}\text{Cl})+H$)+ 525; Tr 0,74 minutos (usando aparato c de CL/EM)).

Ejemplo 53: 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]-N-[2-(1,1-dioxido-4-tiomorfolinil)etil]acetamida

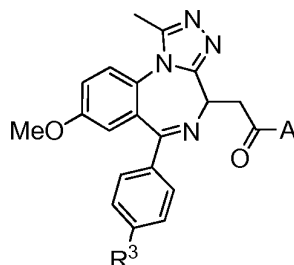


Se disolvieron intermedio 2 (150 mg, 0,378 mmol), [2-(1,1-dioxido-4-tiomorfolinil)etil]amina (70,7 mg, 0,397 mmol), HATU (172 mg, 0,454 mmol) y DIPEA (0,158 ml, 0,907 mmol) en DMF (3 ml) y se agitó a 25 °C durante toda una noche. El disolvente se evaporó dando un aceite amarillo que se fraccionó entre DCM y solución de bicarbonato de sodio acosa saturada. La mezcla se separó en una frita hidrófoba y la fase clorada se evaporó al vacío para dar un aceite naranja. La purificación por cromatografía ultrarrápida en gel de sílice (gradiente de DCM-metanol 5 al 20%) dio el compuesto del título como un sólido color crema pálido (84 mg, 0,151 mmol, rendimiento al 39,9 %). RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7,41 - 7,70 (m, 4 H), 7,30 - 7,41 (m, 2 H), 7,25 (dd, J=9, 3 Hz, 1 H), 6,87 (d, J=3 Hz, 1 H), 4,64 (dd, J=8, 6 Hz, 1 H), 3,82 (s, 3 H), 3,65 - 3,78 (m, 1 H), 3,56 (dd, J=15, 8 Hz, 1 H), 3,26 - 3,50 (m, 2 H), 3,19 (c, J=7 Hz, 1 H), 2,86 - 3,11 (m, 5 H), 2,63 (s, 3 H), 1,23 - 1,53 (m, 4 H). CL/EM ($M(^{35}\text{Cl})+H$)+ 557, ($M(^{37}\text{Cl})+H$)+ 559; Tr

0,84 minutos (usando aparato c de CL/EM)).

Ejemplos 54 a 57 (Referencia)

Los ejemplos 54 a 57 se prepararon a partir del intermedio 2 y la amina apropiada usando el procedimiento descrito en el ejemplo 1.



5

Ejemplo	R ³	Config.	A	Datos físicos
54	Cl	(S)		Tr 2,85 min. (M(³⁵ Cl)+H) ⁺ 474, (M(³⁷ Cl)+H) ⁺ 476
55	Cl	(S)		Tr 3,02 min. (M(³⁵ Cl)+H) ⁺ 477, (M(³⁷ Cl)+H) ⁺ 479
56	Cl	(S)		Tr 2,65 min. (M(³⁵ Cl)+H) ⁺ 480, (M(³⁷ Cl)+H) ⁺ 482
57	Cl	(R)		Tr 4,23 min. (M(³⁵ Cl)+H) ⁺ 501, (M(³⁷ Cl)+H) ⁺ 503

CL/EM se llevó a cabo usando aparato c).

Se entenderá que en el contexto de los ejemplos usados para ilustrar la invención que la información sobre como los compuestos se prepararon no pueden presentarse en el formato usado en la presente invención, por ejemplo, los intermedios y productos finales pueden haberse preparado por diferentes individuos y/o en diferentes puntos temporales empleando diversos lotes y técnicas apropiadas.

Los detalles experimentales de los sistemas procedimientos de CL/EM D y F como se refieren en el presente documento son como sigue:

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

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

CL/HRMS: Se llevó a cabo HPLC analítica en una columna Uptisphere-hsc (3 µm 33 x 3 mm d.i.) eluyendo con acetato de amonio 0,01 M en agua (disolvente A) y acetonitrilo al 100 % (disolvente B), usando el siguiente gradiente

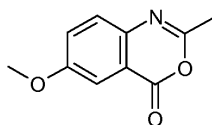
de elución B 0-0,5 minutos al 5 %, B 0,5-3,75 minutos al 5-100 %, B 3,75-4,5 minutos al 100 %, B al 4,5-5 minutos al 100-5 %, B 5-5,5 minutos al 5 % a un caudal de 1,3 ml/minuto. Los espectros de masas (EM) se registraron en un espectrómetro de masas micromass LCT usando ionización positiva de electropulverización [(ES+ve para dar iones moleculares $[M+H]^+$ y $[M+NH_4]^+$ o modos de ionización negativa por electropulverización [(ES-ve para dar ion molecular $[M-H]^-$].

TLC (cromatografía en capa fina) se refiere al uso de las placas de TLC vendidas por Merck revestidas con gel de sílice 60 F254.

Las técnicas de cromatografía en gel de sílice incluyen bien técnicas automatizadas (Flashmaster o Biotage SP4) o bien cromatografía manual en cartuchos preempaquetados (SPE) o columnas ultrarrápidas empaquetadas manualmente.

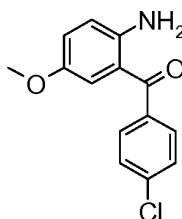
Cuando el nombre de un suministrador comercial se da después del nombre de un compuesto o un reactivo, por ejemplo "compuesto X (Aldrich)" o "compuesto X / Aldrich", esto significa que el compuesto X es obtenible a partir de un suministrador comercial, tal como el suministrador comercial nombrado.

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



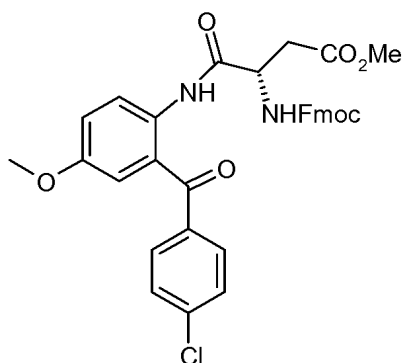
Una solución de ácido 5-metoxiantranílico ((Lancaster) 41,8 g, 0,25 mol) se sometió a reflujo en anhídrido acético (230 ml) durante 3,5 horas antes de concentrarse a presión reducida. El residuo en bruto se concentró después dos veces en presencia de tolueno antes de cargarse y lavarse con éter para proporcionar el compuesto del título (33,7 g, rendimiento del 71%) como un sólido marrón; CL/EM (Procedimiento D): m/z 192 $[M+H]^+$, Tr 1,69 min.

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



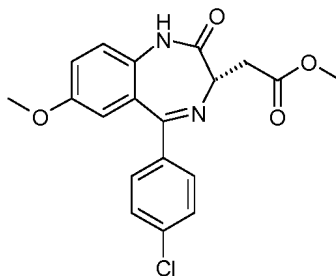
A una solución de 2-metil-6-(metiloxi)-4H-3,1-benzoxazin-4-ona (para una preparación véase compuesto de referencia A) (40,0 g, 0,21 mol) en una mezcla de éter tolueno/éter (2/1) (760 ml) a 0 °C se añadió gota a gota una solución de bromuro de 4-clorofenil-magnesio (170 ml, 1 M en Et₂O, 0,17 mol). La mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 1 h, antes de que se inactivase con HCl 1 N (200 ml). La fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 150 ml) y los productos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (100 ml), se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró a presión reducida. El compuesto en bruto se disolvió después en EtOH (400 ml) y se añadió HCl 6N (160 ml). La mezcla de reacción se sometió a reflujo durante 2 horas 2 horas antes de concentrarse a un tercio en volumen. El sólido resultante se filtró y se lavó dos veces con éter antes de suspenderse en EtOAc y se neutralizó con NaOH 1 N. La fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 150 ml) y los productos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (150 ml), se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró a presión reducida. El compuesto del título se obtuvo en un sólido amarillo (39 g, rendimiento del 88 %); CL/EM (Procedimiento D): m/z 262 $[M+H]^+$, Tr 2,57 min.

Compuesto de referencia C: cloruro de N-[2-[(4-clorofenil)carbonil]-4-(metiloxi)fenil]-N'-{[(9H-fluoren-9-il-metil)oxi]carbonil}-L-α-asparaginato de metilo



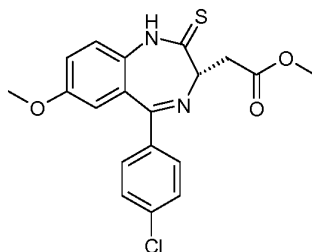
Cloruro de *N*-[[[9H-fluoren-9-ilmetil]oxi]carbonil]-L- α -aspartilo (Int. J. Peptide Protein Res. 1992, 40, 13-18) (93 g, 0,24 mol) se disolvió en CHCl_3 (270 ml) y se añadió [2-amino-5-(metiloxi)fenil](4-clorofenil)metanona (para una preparación véase compuesto de referencia B) (53 g, 0,2 mol). La mezcla resultante se agitó a 60 °C durante 1 h antes de enfriarse y de concentrarse al 60 % en volumen. Se añadió éter a 0 °C y el precipitado resultante se filtró y se descartó. El filtrado se concentró a presión reducida y se usó sin purificación adicional.

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



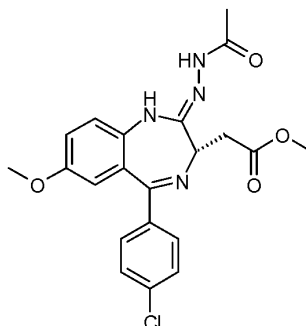
A una solución de N1-[2-[(4-clorofenil)carbonil]-4-(metiloxi)fenil]-N2-[[[9H-fluoren-9-ilmetil]oxi]carbonil]-L-asparaginato (para una preparación véase compuesto de referencia C) (supuestos 0,2 mol) en DCM (500 ml) se añadió Et_3N (500 ml, 3,65 mol) y la mezcla resultante se sometió a reflujo durante 24 horas antes de concentrarse. La amina en bruto resultante se disolvió en 1,2-DCE (1,5 l) y se añadió cuidadosamente AcOH (104 ml, 1,8 mol). La mezcla de reacción se agitó después a 60 °C durante 2 h antes de que se concentre al vacío y se disuelva en DCM. La fase orgánica se lavó con HCl 1N y la fase acuosa se extrajo con DCM (x3). Se lavaron las capas orgánicas combinadas dos veces con agua y salmuera, después se secaron sobre Na_2SO_4 , se filtraron y se concentraron a presión reducida. El sólido en bruto se recrystalizó en MeCN conduciendo al compuesto del título (51 g) como un sólido amarillo pálido. El filtrado podría concentrarse y recrystalizarse en MeCN dando otros 10 g del producto deseado $R_f = 0,34$ (DCM/MeOH : 95/5). HRMS (M+H)⁺ calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{18}^{35}\text{ClN}_2\text{O}_4$ 373,0955; hallado 373,0957.

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



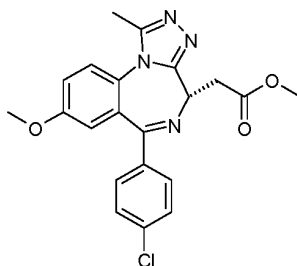
Una suspensión de P_4S_{10} (36,1 g, 81,1 mmol) y Na_2CO_3 (8,6 g, 81,1 mmol) en 1,2-DCE (700 ml) a temperatura ambiente se agitó durante 2 h antes de que se añadiera [(3S)-5-(4-clorofenil)-7-(metiloxi)-2-oxo-2,3-dihidro-1H-1,4-benzodiazepin-3-il]acetato de metilo (para una preparación véase compuesto de referencia D) (16,8 g, 45,1 mmol). La mezcla resultante se agitó a 70 °C durante 2 horas antes de enfriarse y filtrarse. El sólido se lavó dos veces con DCM y el filtrado se lavó con NaHCO_3 saturado y salmuera. La fase orgánica se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró y se concentró a presión reducida. El producto se purificó por cromatografía ultrarrápida en gel de sílice (DCM/MeOH: 99/1) para proporcionar el compuesto del título (17,2 g, rendimiento al 98 %) como un sólido amarillento. CL/EM (Procedimiento D): m/z 389 $[\text{M}^{(35}\text{Cl})+\text{H}]^+$, Tr 2,64 minutos HRMS (M+H)⁺ calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{18}^{35}\text{ClN}_2\text{O}_3\text{S}$ 389,0727; hallado 389,0714.

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



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

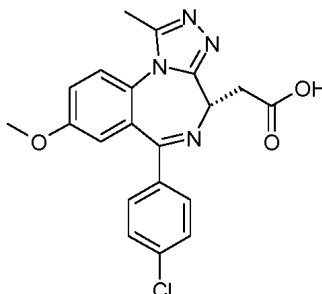
Compuesto de referencia G: [(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]acetato de metilo



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

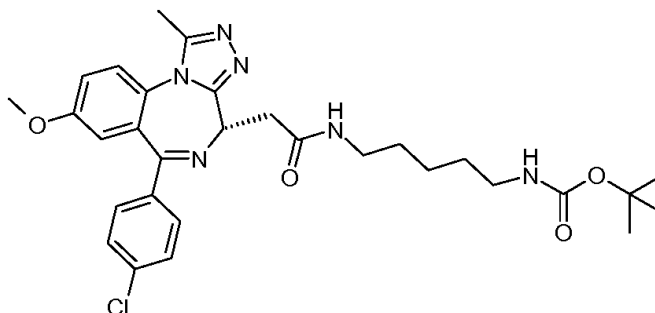
HRMS (M+H)⁺ calculado para C₂₁H₂₀ClN₄O₃ 411,1229; hallado 411,1245.

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



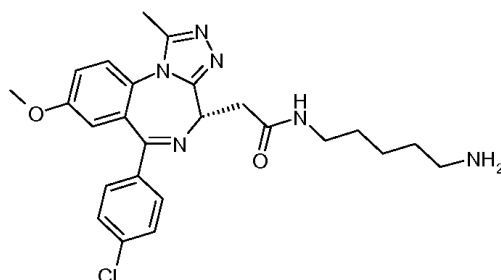
A una solución de [(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]acetato de metilo (para una preparación véase compuesto de referencia G) (7,4 g, 18,1 mmol) en THF (130 ml) a temperatura ambiente se añadió NaOH 1N (36,2 ml, 36,2 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 5 horas antes de desactivarse con HCl 1 N (36,2 ml) y se concentró *in vacuo*. Se añadió después agua y la fase acuosa se extrajo con DCM (x3) y las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron a presión reducida dando el compuesto del título (7 g, rendimiento del 98 %) como un sólido amarillo pálido.

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



Una mezcla de ácido [[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]acético (para una preparación véase compuesto de referencia H) (1,0 g, 2,5 mmol), HATU (1,9 g, 5 mmol) y DIPEA (0,88 ml, 5 mmol) se agitó durante 80 minutos a temperatura ambiente, a esto se añadió 1,1-dimetiletil(4-aminopentil)carbamato (1,05 ml, 5,0 mmol, disponible de Aldrich). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 2 horas antes de que se concentrase. El residuo se llevó en diclorometano y se lavó con HCl 1N. Se extrajo la fase acuosa con diclorometano dos veces. La fase orgánica se lavó con hidróxido de sodio 1 N, seguido por una solución saturada de cloruro de sodio, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida en sílice usando diclorometano/metanol 95/5 para dar el compuesto del título como un sólido amarillo (1,2 g). CL/EM (Procedimiento D): tr = 3,04 minutos.

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

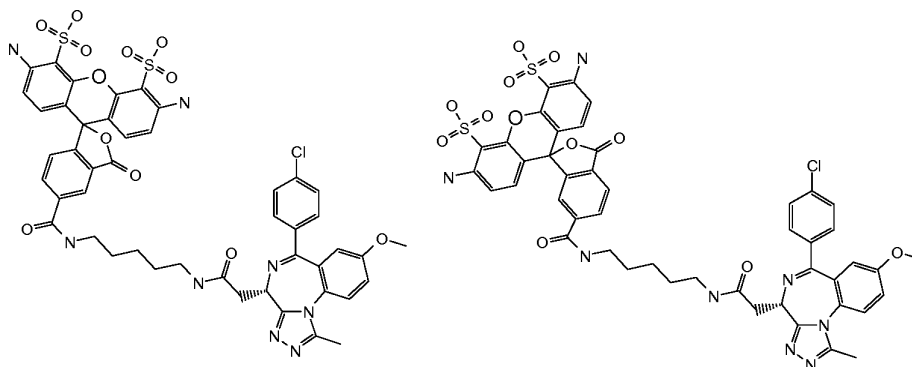


.TFA

A una solución de [5-([[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]acetil]amino)pentil]carbamato de 1,1-dimetiletilo (para una preparación véase compuesto de referencia H) (0,2 g, 0,34 mmol) en diclorometano (3 ml) se añadió ácido trifluoroacético (0,053 ml, 0,68 mmol) gota a gota a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó durante 3 h desde 0 °C hasta temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró hasta sequedad para proporcionar el compuesto del título como un aceite amarillo higroscópico (200 mg). CL/EM (Procedimiento D): tr = 2,33 min.

HRMS (M+H)⁺ calculado para C₂₅H₂₉ClN₆O₂ 481,2119; encontrado 481,2162.

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



Trifluoroacetato de N-(5-aminopentil)-2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]acetamida (para una preparación véase compuesto de referencia J) (7,65 mg, 0,013 mmol)

se disolvió en N,N-dimetilformamida (DMF) (300 µl) y se añadió a éster succinimidilo de ácido carboxílico Alexa Fluor 488 (5 mg, 7,77 µmol, mezcla de isómeros 5 y 6, disponible a partir de Invitrogen, número de producto A-20100) en un tubo de centrifuga Eppendorf. Se añadió base de Hunig (7,0 µl, 0,040 mmol) y la mezcla de mezcló en vórtice durante toda una noche. Después de 18 h la mezcla de reacción se evaporó a sequedad y el residuo se redisolvió en DMSO/agua (al 50 %, <1 ml total), se aplicó a una columna Phenomenex Jupiter C18 preparativa y eluyó con un gradiente de A al 95 %: B al 5 % a B al 100 % (A = ácido trifluoroacético al 0,1 % en agua, B= TFA al 0,1 %/acetonitrilo 90 %/agua al 10 %) a un caudal de 10 ml/minuto durante 150 minutos. Las fracciones impuras se combinaron y repurificaron usando el mismo sistema. Las fracciones se combinaron y se evaporaron para proporcionar el producto del título (2,8 mg) como una mezcla de los 2 regioisómeros mostrados. CL/EM (Procedimiento F):, MH+ = 999, tr = 1,88 minutos.

Procedimientos de prueba biológicos

Ensayo de enlace de anisotropía de fluorescencia

Se evaluó el enlace del compuesto de fórmula (I) con el Bromodominio 2, 3 y 4 usando un ensayo de enlace de anisotropía de fluorescencia.

La proteína de Bromodominio, el ligando fluorescente (el compuesto de referencia K, véase anteriormente) y una concentración variable del compuesto de prueba se incuban juntos hasta alcanzar el equilibrio termodinámico en condiciones tales que en ausencia del compuesto de prueba el ligando fluorescente se enlaza de una manera significativa (>50 %) y en presencia de una concentración suficiente de un inhibidor potente la anisotropía del ligando fluorescente no enlazado es mensurablemente diferente del valor enlazado.

Todos los datos se normalizaron al promedio de 16 pocillos de control altos y 16 pocillos de control bajos en cada placa. Después se aplicó un ajuste de curva de cuatro parámetros de la siguiente forma:

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

Donde 'a' es el mínimo, 'b' es la pendiente de Hill, 'c' es la pCl₅₀ y 'd' es el máximo.

Los Bromodominios Humanos Recombinantes Bromodominio 2 (1-473), el Bromodominio 3 (1-435) y el Bromodominio 4 (1-477)) se expresaron en células de *E. coli* (en el vector pET15b) con una marca de seis-His en el término N. El Bromodominio marcado con His se extrajo a partir de las células de *E. coli* usando 0,1 mg/ml de lisozima y sonicación. El Bromodominio después se purificó mediante cromatografía por afinidad sobre una columna HisTRAP HP, eluyendo con un gradiente lineal de imidazol de 10 a 500 mM, sobre 20 Cv. La purificación adicional se llevó a cabo mediante una columna de exclusión de tamaños de grado de preparación Superdex 200. La proteína purificada se almacenó a -80°C en HEPES 20 mM, pH de 7,5 y NaCl 100 mM.

Protocolo para el Bromodominio 2: todos los componentes se disolvieron en una composición de tampón de HEPES 50 mM pH de 7,4, NaCl 150 mM y CHAPS 0,5 mM con concentraciones finales del Bromodominio 2,75 nM, ligando fluorescente 5 nM. Se agregaron 10 µl de esta mezcla de reacción usando un micro-multigoteo a pocillos que contenían 100 nl de diferentes concentraciones del compuesto de prueba o del vehículo DMSO (1 % final) en una placa de microtitulación de bajo volumen Greiner negra de 384 pocillos y se equilibraron en la oscuridad durante 60 minutos a temperatura ambiente. La anisotropía de fluorescencia se leyó en un Envision (λ_{ex} = 485 nm, λ_{em} = 530 nm; Dicroico -505 nm).

Protocolo para el Bromodominio 3: todos los componentes se disolvieron en una composición de tampón de HEPES 50 mM pH de 7,4, NaCl 150 mM y CHAPS 0,5 mM con concentraciones finales del Bromodominio 3 75 nM, ligando fluorescente 5 nM. Se agregaron 10 µl de esta mezcla de reacción usando un micro-multigoteo a pocillos que contenían 100 nl de diferentes concentraciones del compuesto de prueba o del vehículo de DMSO (1 % final) en una placa de microtitulación de bajo volumen Greiner negra de 384 pocillos y se equilibraron en la oscuridad durante 60 minutos a temperatura ambiente. La anisotropía de fluorescencia se leyó en un Envision (λ_{ex} = 485 nm, λ_{em} = 530 nm; Dicroico -505 nm).

Protocolo para el Bromodominio 4: todos los componentes se disolvieron en una composición de tampón de HEPES 50 mM pH de 7,4, NaCl 150 mM y CHAPS 0,5 mM, con concentraciones finales del Bromodominio 4 75 nM, ligando fluorescente 5 nM. Se agregaron 10 µl de esta mezcla de reacción usando un micro-multigoteo a pocillos que contenían 100 nl de diferentes concentraciones del compuesto de prueba o del vehículo de DMSO (1 % final) en una placa de microtitulación de bajo volumen Greiner negra de 384 pocillos y se equilibraron en la oscuridad durante 60 minutos a temperatura ambiente. La anisotropía de fluorescencia se leyó en un Envision (λ_{ex} = 485 nm, λ_{em} = 530 nm; Dicroico -505 nm).

Todos los ejemplos (con la excepción de los ejemplos 5-8, 18, 19, 30, 49, 52 y 53) se pusieron a prueba en los ensayos descritos anteriormente. Todos los ejemplos probados tuvieron un pCl₅₀ ≥ 5,0 en una o más de las BRD2, BRD3 y BRD4. Ejemplos 1, 2, 4, 9-17, 22-24, 26, 39-48, 50, 51 y 54-56 tuvieron un pCl₅₀ ≥ 6,0 en uno o más de los ensayos de BRD2, BRD3 y BRD4 descritos anteriormente.

Ensayo de sangre entera estimulada por LPS que mide los niveles de TNF α

La activación de las células monocíticas mediante los agonistas de los receptores tipo-Toll tales como el lipopolisacárido bacteriano (LPS) da como resultado la producción de los mediadores inflamatorios clave incluyendo TNF α . Se considera ampliamente que tales rutas son centrales para la patofisiología de una variedad de trastornos autoinmunes e inflamatorios. Los compuestos a probar se diluyen para dar un intervalo de concentraciones apropiadas y se agrega 1 μ l de las diluciones madre a una placa de 96 pocillos. Después de la adición de sangre entera (130 μ l) las placas se incuban a 37 °C (CO₂ al 5 %) durante 30 minutos antes de la adición de 10 μ l de 2,8 μ g/ml de LPS, diluido en RPMI 1640 completo (concentración final = 200 ng/ml), para dar un volumen total de 140 μ l por pocillo. Después de una incubación adicional durante 24 horas a 37 °C, se agregan 140 μ l de PBS a cada pocillo. Las placas se sellan, se agitan durante 10 minutos y después se centrifugan (2500 revoluciones por minuto x 10 minutos). Se retiran 100 μ l del sobrenadante y se ensayan los niveles de TNF α mediante un inmunoensayo (típicamente mediante la tecnología MesoScale Discovery) bien inmediatamente o bien después del almacenamiento a -20°C. Las curvas de respuesta a la dosis para cada compuesto se generaron a partir de los datos y se calculó un valor CI₅₀.

Los ejemplos 1, 12 y 14 se pusieron a prueba en el ensayo anterior y se encontró que tenían un pCI₅₀ > 5,0. Los ejemplos 1, 12 y 14 se pusieron a prueba en el ensayo anterior y se encontró que tenían un pCI₅₀ > 6,0. Se descubrió que el Ejemplo 1 tiene una pCI₅₀ > 6,0 en el ensayo anterior.

Medida de secreción de IL-6 inducida por LPS a partir de sangre completa

La activación de células monocíticas por agonistas de receptores de tipo toll tales como lipopolisacárido bacteriano (LPS) dio como resultado la producción de mediadores inflamatorios clave incluyendo IL-6. Tales rutas se considera ampliamente que son centrales a la patofisiología de un intervalo de trastornos autoinmunes e inflamatorios.

Los compuestos a someterse a prueba se diluyen para dar un intervalo de concentraciones apropiadas de las que 1 μ l de las reservas de dilución se añaden a pocillos en una placa de 96 pocillos. Tras adición de sangre completa (130 μ l) las placas se incubaron a 37 grados (CO₂ al 5 %) durante 30 minutos antes de la adición de 10 μ l de 2,8 μ g/ml de LPS, se diluyó en RPMI 1640 completo (concentración final = 200 ng/ml), para dar un volumen total de 140 μ l por pocillo. Después de incubación adicional durante 24 horas a 37 grados, se añadieron 140 μ l de PBS a cada pocillo. Las placas se sellaron, se agitaron durante 10 minutos y después se centrifugaron (2500 rpm x 10 min). 100 μ l del sobrenadante se agitaron y niveles de IL-6 se ensayaron por inmunoensayo (típicamente por tecnología de MesoScale Discovery) bien inmediatamente o bien tras almacenamiento a -20 grados. Se generaron curvas de respuesta a concentración para cada compuesto a partir de los datos y se calculó el valor de CI₅₀.

Los ejemplos 1-4, 9-11, 13, 15, 17, 26, 39-48, 50, 51, 54, 55 y 56 se pusieron a prueba en el ensayo anterior y todos, con la excepción del Ejemplo 81, se encontró que tenían un pCI₅₀ > 5,0.

Estos datos demostraron que los inhibidores de bromodominios sometidos a prueba en los anteriores dos ensayos de sangre completa inhibieron la producción de los mediadores de inflamación claves TNF α y/o IL6. Esto sugiere que tales compuestos tienen un perfil antiinflamatorio.

Modelo de endotoxemia de ratón *in vivo*

Las dosis altas de la Endotoxina (lipopolisacárido bacteriano) administrada a los animales producen un síndrome de choque profundo que incluye una fuerte respuesta inflamatoria, mala regulación de la función cardiovascular, fallo de órganos y por último mortalidad. Este patrón de respuesta es muy similar a la sepsis humana y al choque séptico, donde la respuesta del cuerpo a una infección bacteriana significativa puede ser de forma similar amenazante para la vida.

Para probar el compuesto de fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables del mismo a los grupos de ocho ratones Balb/c machos se les dio una dosis letal de 15 mg/kg de LPS mediante inyección intraperitoneal. Noventa minutos más tarde, los animales se dosificaron intravenosamente con el vehículo (ciclodextrina al 20 %, etanol al 1 % en agua sin pirógeno) o el compuesto (10 mg/kg). La supervivencia de los animales se controló a los 4 días.

Números de animales sobrevivientes a los 4 días (sumados a través de múltiples experimentos repetidos):

Vehículo	4/66	(6 %)
Ejemplo 1	24/56	(52 %)

Estos datos demuestran que el inhibidor de bromodominio sometido a prueba en el procedimiento anterior dio lugar a un efecto de supervivencia animal significativo después de la administración intravenosa.

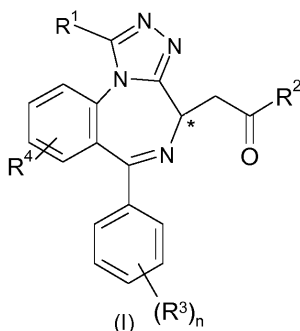
Ensayo de crecimiento celular

Las células de líneas humanas (n = 33 comprendiendo 15 líneas de células hemo, 14 líneas celulares de mama y 4 líneas celulares diferentes) se cultivaron en RPMI-1640 conteniendo suero fetal bovino al 10 %, se plaquearon 100

- 5 células viables por pocillo en placas de poliestireno de fondo plano de 384 pocillos (Greiner n.º: 781086) en 48 µl de medios de cultivo. Todas las placas se situaron en CO₂ al 5 %, a 37 °C durante toda una noche. El día siguiente una placa se recogió con CellTiter-Glo (CTG, Promega n.º: G7573) para un tiempo igual a medida 0 (T0) y compuesto (titración de 20 puntos de 14,7 uM a 7 pM) se añadió a las placas restantes. La concentración final de DMSO en todos los pocillos fue del 0,15 %. Las células se incubaron durante 72 horas en el tiempo indicado y cada placa se desarrolló con reactivo CellTiter-Glo usando un equivalente de volumen al volumen de cultivo celular en los pocillos. Las placas se agitaron durante aproximadamente 2 minutos y la señal de quimioluminiscencia se leyó en el Analyst GT (Molecular Devices) o en el EnVision Plate Reader (Perkin Elmer).
- 10 Los resultados se expresaron como un porcentaje del T0 y se representaron frente a la concentración de compuestos. El valor de T0 se normalizó al 100 % y representa el número de células en el momento de la adición de compuesto y los datos de respuesta a concentración se ajustaron a un ajuste de curva de 4 parámetros usando software XLfit (modelo 205). La concentración que inhibió el crecimiento celular en el 50 % (gIC₅₀) es el punto medio de la 'ventana de crecimiento' (entre el T0 y el control con DMSO). El valor Ymin - T0 de determina sustrayendo el valor T0 (100 %) del valor Ymin (%) determinada a partir del ajuste de la curva de respuesta de concentraciones.
- 15 Los valores de los pocillos sin ninguna célula se sustrajeron de todas las muestras para corrección de fondo. El ejemplo 1 se sometió a prueba de acuerdo con el ensayo anterior y se encontró que tenía un gCI₅₀ en el intervalo 163-29300 nM a lo largo de todas las líneas celulares, más específicamente en el intervalo 163 - 2480 nM para líneas de células hemo y 410 - 29300 nM para líneas de mama.
- 20 Estos datos demuestran que el inhibidor de bromodominio puesto a prueba en el ensayo anterior inhibió crecimiento celular en un panel de líneas celulares oncológicas.

REIVINDICACIONES

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



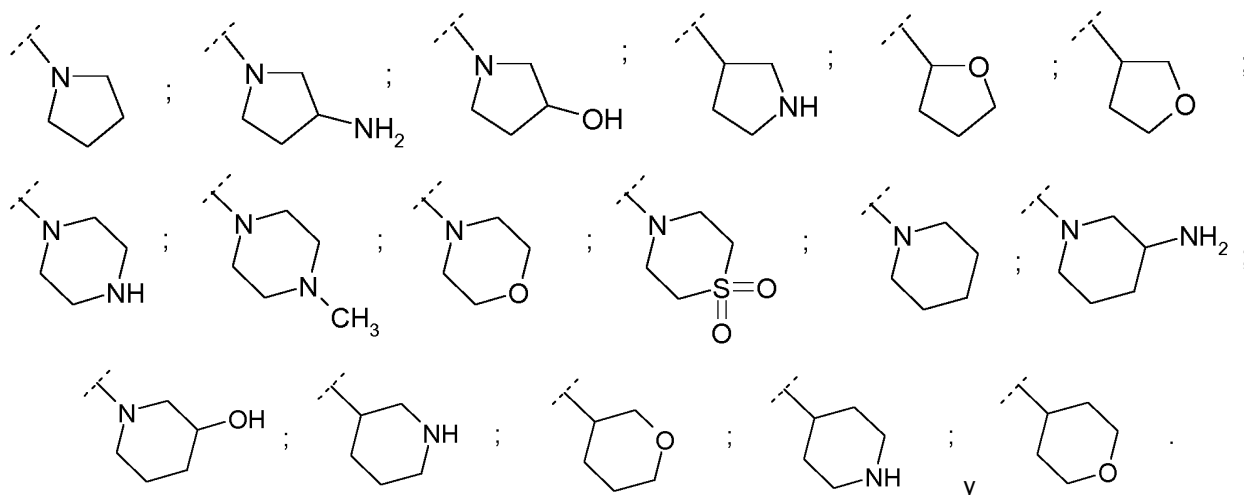
en la que

- 5 R^1 es alquilo C_{1-3} ;
 R^2 es $-NR^{2a}R^{2a'}$ en la que R^{2a} es hidrógeno y $R^{2a'}$ es heterociclilalquilo C_{1-4} , en la que el heterociclilo está opcionalmente sustituido una vez con amino, hidroxilo o metilo;
 cada R^3 está independientemente seleccionado de hidrógeno, hidroxilo, halo, alquilo C_{1-6} , haloalquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , haloalcoxi C_{1-6} , nitro, ciano, CF_3 , $-OCF_3$, $-COOR^5$ y alquiloH C_{1-4} ;
 10 R^4 es hidroxilo, halo, alquilo C_{1-6} , haloalquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , haloalcoxi C_{1-6} , nitro, ciano, CF_3 , $-OCF_3$, $-COOR^5$ u $-OS(O)_2$ alquilo C_{1-4} ;
 R^5 es alquilo C_{1-3} ; y
 n es un número entero de 1 a 5.

15 2. Un compuesto o una sal del mismo de acuerdo con la reivindicación 1 en el que R^{2a} está seleccionado de heterociclil- CH_2 -, heterociclil- CH_2CH_2 -, heterociclil- $CH_2CH_2CH_2$ - y heterociclil- $CH_2CH_2CH_2CH_2$ -, en el que el heterociclilo está opcionalmente sustituido una vez con amino, hidroxilo o metilo.

3. Un compuesto o una sal del mismo de acuerdo con la reivindicación 2, en el que heterociclilo está seleccionado de tetrahydrofurano, pirrolidinilo, piperidinilo, tetrahidropirano, piperazinilo, morfolino y tiomorfolinodioxido, en el que cada grupo está opcionalmente sustituido una vez con por amino, hidroxilo o metilo.

20 4. Un compuesto o una sal del mismo de acuerdo con la reivindicación 3, en el que heterociclilo se selecciona de:



25 5. Un compuesto o una sal del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 - 4, en el que n es 1 y R^3 es 3-fluoro, 4-chloro, 4-fluoro, 4-metoxi o 4- CF_3 .

6. Un compuesto o una sal del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 - 5, en el que R^4 es 8-MeO.

7. Un compuesto o una sal del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 - 6 que es el enantiómero S.

30 8. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 que se selecciona de 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-

4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]-N-[2-(4-morfolinil)etil]acetamida; 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]-N-[3-(4-morfolinil)propil]acetamida; 2-[(4S)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(metiloxi)-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepin-4-il]-N-[2-(1,1-dioxido-4-tiomorfolinil)etil]acetamida o una sal del mismo.

- 5 9. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 - 8, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 - 9 y uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables.
- 10 11. Un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 - 9 para su uso en terapia.

12. Un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 - 9 para su uso en el tratamiento de una afección crónica autoinmune y/o inflamatoria.
- 15 13. Un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 - 9 para su uso en el tratamiento de cáncer.