(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 743 184**

(51) Int. CI.:

C07D 471/04 (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)
A61P 21/00 (2006.01)
A61P 9/00 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **02.06.2015 PCT/IB2015/054173**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **10.12.2015 WO15186062**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.06.2015 E 15731120 (0)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.05.2019 EP 3152208**

(54) Título: **Derivados de pirimido[4,5-b]quinolin-4,5(3H,10H)-diona como supresores de mutaciones finalizadoras**

(30) Prioridad:

03.06.2014 EP 14170974

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
18.02.2020

(73) Titular/es:

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

(72) Inventor/es:

REINHARDT, JUERGEN y
SCHMIEDEBERG, NIKO

(74) Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

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

DESCRIPCIÓN

Derivados de pirimido[4,5-*b*]quinolin-4,5(3*H*,10*H*)-diona como supresores de mutaciones finalizadoras

La invención se refiere a pirimido[4,5-*b*]quinolin-4,5(3*H*,10*H*)-dionas, a los compuestos para su uso como medicamentos y a composiciones y combinaciones farmacéuticas que los comprenden, cada uno de ellos como se define en las reivindicaciones independientes o cualquiera de las reivindicaciones dependientes.

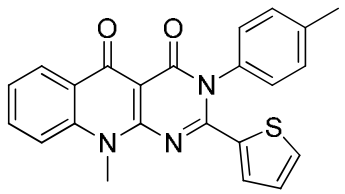
Muchas enfermedades genéticas humanas están provocadas por mutaciones finalizadoras (remítase a Keeling *et al.*, *WIREs RNA*, 2011, 2, 837-852; Linde *et al.*, *Trends in Genetics*, 2008, 24(11), 552-563; y Rose *et al.*, *Pharmacology & Therapeutics*, 2012 136(2), 227-266).
Una mutación finalizadora (*nonsense mutation*) es una mutación genética que provoca la transformación de un codón codificante en un codón de terminación prematura (en lo sucesivo en la presente PTC, por sus siglas en inglés) antes del codón de terminación normal.
Los codones de terminación eucarióticos son UAA, UAG o UGA.
El codón de terminación normal detiene la traducción del gen y permite la síntesis de proteínas de origen natural de longitud completa. Un PTC evita dicha síntesis de proteínas de origen natural y conduce a proteínas truncadas, en muchos casos inactivas. La carencia parcial/total de proteína resultante conduce a la patología de la enfermedad provocada por dicha mutación finalizadora.
Las mutaciones finalizadoras pueden ser mutaciones en el marco, p. ej., intercambios de ácidos nucleicos únicos que transforman un solo codón en un PTC, o mutaciones con desplazamiento del marco de lectura, p. ej., una sola inserción/deleción de ácido nucleico que transforma el codón afectado en un PTC.

En la presente, un compuesto que sea capaz de suprimir el efecto de una mutación finalizadora se denomina «supresor de mutación finalizadora».

Un mecanismo para suprimir el efecto de las mutaciones finalizadoras consiste en aumentar la tasa de eventos de lectura durante la traducción. En la presente, un compuesto que tenga este mecanismo de acción se denomina «activador de lectura». En un evento de lectura, se utiliza un aminoacil-ARNt que esté cerca del cognato para recodificar un codón de terminación en un codón codificante. En condiciones de base, la recodificación de un PTC en un codón codificante se produce en menos de un 1% de los eventos de traducción, mientras que la supresión de un codón de parada normal se produce con una frecuencia < 0.1%. Los aminoácidos insertados por recodificación no serán necesariamente idénticos a los aminoácidos correspondientes de la proteína de origen natural; sin embargo, muchas sustituciones de aminoácidos son toleradas a nivel funcional. Por lo tanto, una proteína producida por activación de la lectura puede poseer una actividad muy similar a la proteína de origen natural. Por consiguiente, al aumentar la tasa de recodificación del PTC se puede restablecer suficiente proteína funcional como para proporcionar un beneficio terapéutico a pacientes que portan una mutación finalizadora.

Otro mecanismo para suprimir el efecto de las mutaciones finalizadoras consiste en inhibir la descomposición del ARNm mediada por mutaciones finalizadoras (NMD, por sus siglas en inglés). En la presente, un compuesto que tenga este mecanismo de acción se denomina «inhibidor de NMD». La NMD regula el nivel total de transcritos que portan PTC: detecta y degrada tales transcritos para evitar la síntesis de proteínas truncadas que pueden ser no funcionales o perjudiciales debido a los efectos dominantes negativos o de ganancia de función. La inhibición de NMD aumenta el número de transcritos disponibles, lo que también podría ser un mecanismo para restablecer suficiente proteína funcional para obtener un beneficio terapéutico.

Algunos compuestos descritos como supresores de mutaciones finalizadoras son determinados antibióticos aminoglicosídicos, p. ej., en el documento WO2007113841, y determinados ácidos 1,2,4-oxadiazolbenzoicos, p. ej., en el documento WO2004091502, y un compuesto denominado de forma común amlexanox (WO2012016930). El documento WO 2014/091446 A1, como derecho previo, describe pirimidoquinolindionas que están fuera de la presente invención. El documento WO2009086303 describe agentes para incrementar la esperanza de vida. El documento WO96/28444 describe compuestos de tipo dihidropirimidoquinolinona como inhibidores de la tirosín cinasa. En la publicación de patente PCT/IB2013/060859A se mencionan una serie de pirimido[4,5-*b*]quinolin-4,5(3*H*,10*H*)-dionas que han sido publicadas en catálogos de proveedores de compuestos químicos sin indicar la utilidad de los compuestos. Además, el siguiente compuesto ha sido publicado sin indicar la utilidad del compuesto:

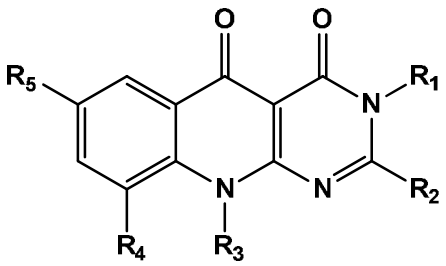
Estructura	Nombre	Número CAS
	10-metil-2-(tiofen-2-il)-3-(*p*-tolil)pirimido[4,5-*b*]quinolin-4,5(3*H*,10*H*)-diona	898919-81-8

Se considera que los supresores de mutaciones finalizadoras son útiles en el tratamiento de una amplia gama de enfermedades provocadas por mutaciones finalizadoras. Algunos ejemplos destacados de enfermedades provocadas por mutaciones finalizadoras son enfermedades provocadas por mutaciones finalizadoras en enzimas lisosomales, p. ej., mucopolisacaridosis I (síndrome de Hurler) provocada por mutaciones finalizadoras en la α-L-iduronidasa; hemofilia A o hemofilia B provocada por mutaciones finalizadoras en los factores de coagulación 7, 8 o 9; fibrosis quística provocada por mutaciones finalizadoras en el canal de cloruro CFTR; enfermedades provocadas por mutaciones finalizadoras en proteínas estructurales, p. ej., distrofia muscular de Duchenne o Becker provocada por mutaciones finalizadoras en la distrofina; o cáncer provocado por mutaciones finalizadoras en APC o p53.

Resulta necesario proporcionar nuevos supresores de mutaciones finalizadoras que sean buenos candidatos para fármacos. En particular, los compuestos preferidos deben ser supresores de mutaciones finalizadoras potentes, a la vez que muestren poca potencia en otros ensayos de dianas farmacológicas, p. ej., GPCR o ensayos de canales iónicos. Deben exhibir una baja unión a las proteínas del plasma. Deben ser bien absorbidos a partir del tracto gastrointestinal, ser lo suficientemente estables metabólicamente y poseer propiedades farmacocinéticas favorables. Deben ser atóxicos y demostrar pocos efectos secundarios. Además, el candidato para fármaco ideal podrá existir en una forma física que sea estable, no higroscópica y fácil de formular.

Los compuestos de la invención son supresores de mutaciones finalizadoras y, por lo tanto, son potencialmente útiles en el tratamiento de una amplia gama de enfermedades provocadas por mutaciones finalizadoras, particularmente donde la enfermedad se selecciona entre hemofilia A, hemofilia B, fibrosis quística, mucopolisacaridosis I, distrofia muscular de Duchenne, distrofia muscular de Becker, cáncer provocado por pérdida de APC y cáncer provocado por pérdida de p53.

En un primer aspecto, la invención se refiere a un compuesto de fórmula (I) en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable



(I);
donde

R_1 es un anillo seleccionado entre pirazolilo, tiofenilo o piridin-2-ilo, donde el anillo puede estar sustituido con alquilo C_{1-3};
R_2 es alquilo C_2-C_3
o R_2 es ciclobutilo.
R_3 es hidrógeno o metilo;
R_4 es hidrógeno y
R_5 es hidrógeno.

A efectos de referencia, la divulgación se refiere a un compuesto de fórmula (I) en forma libre o en una forma de sal farmacéuticamente aceptable, donde
R_1 es un anillo seleccionado entre pirazolilo, tiofenilo o piridin-2-ilo, donde el anillo puede estar sustituido con alquilo C_{1-3},
R_2 es alquilo C_{2-7} que puede estar sustituido una vez o más de una vez con R_6;
o R_2 es -X_1-R_7; -X_1- es -O-, -S- o -N(R_8)-; R_8 es hidrógeno o alquilo C_{1-4}; y R_7 es alquilo C_{1-6} que puede estar sustituido una vez o más de una vez con R_9;
o R_2 es un sistema anular no aromático, saturado o insaturado, monocíclico, de tres a siete miembros, donde dicho sistema anular puede contener de 1 a 4 heteroátomos seleccionados entre nitrógeno, oxígeno y azufre, y donde dicho sistema anular puede estar sustituido una vez o más de una vez con R_{10};
R_3 es hidrógeno o -CH_2R_{12};
R_{12} es hidrógeno, alquilo C_{1-4}, alquenilo C_{2-6}, cicloalquilo C_{3-6}, alcoxi C_{1-3}-alquilo C_{1-3}, hidroxialquilo C_{1-3} o aminoalquilo C_{1-3};
R_4 es hidrógeno, halógeno, hidroxilo, amino, ciano, alquilo C_{1-4}, halogenoalquilo C_{1-4}, hidroxialquilo C_{1-4}, alcoxi C_{1-4}-alquilo C_{1-4}, amino-alquilo C_{1-4}, alquil C_{1-4}-amino-alquilo C_{1-4}, di(alquil C_{1-4})-amino-alquilo C_{1-4}, alcoxi C_{1-4}, halogenoalcoxi C_{1-4}, alquil C_{1-4}amino o di(alquil C_{1-4})amino;
o un sistema anular no aromático, saturado o insaturado, aromático, monocíclico, de tres a siete miembros, donde dicho sistema anular puede contener de 1 a 4 heteroátomos seleccionados entre nitrógeno, oxígeno y azufre, donde dicho

sistema anular puede estar unido directamente o a través de un alquileno C_{1-2}, y donde dicho sistema anular puede estar sustituido una vez o más de una vez con R_{11};

o

R_3 y R_4, considerados conjuntamente, son $-CH_2-CH_2-$;

R_5 es hidrógeno, halógeno, hidroxilo, ciano, alquilo C_{1-4}, halogenoalquilo C_{1-4}, hidroxialquilo C_{1-4}, alcoxi C_{1-4}-alquilo C_{1-4}, amino-alquilo C_{1-4}, alquil C_{1-4}-amino-alquilo C_{1-4}, di(alquil C_{1-4})-amino-alquilo C_{1-4}, alquenilo C_{2-4}, alquinilo C_{2-4}, alcoxi C_{1-4} o halogenoalcoxi C_{1-4} o cicloalquilo C_{3-4}, donde un átomo de carbono puede estar reemplazado por un átomo de oxígeno, donde el cicloalquilo C_{3-4} puede estar unido directamente o a través de un alquileno C_{1-2}, y donde el cicloalquilo C_{3-4} puede estar sustituido una vez o más de una vez con halógeno;
R_6 y R_9 son, cada uno independientemente, halógeno, hidroxilo, amino, ciano, nitro, alcoxi C_{1-4}, halogenoalcoxi C_{1-4}, alquil C_{1-4}amino o di(alquil C_{1-4})amino;
o cicloalquilo C_{3-6}, donde un átomo de carbono puede estar reemplazado por un átomo de oxígeno, donde el cicloalquilo C_{3-6} puede estar unido directamente o a través de un alquileno C_{1-2}, y donde el cicloalquilo C_{3-6} puede estar sustituido una vez o más de una vez con halógeno;
o dos R_6 o R_9 en el mismo átomo de carbono juntos son oxo;
o dos R_6 o R_9 en el mismo átomo de carbono, junto con dicho átomo de carbono, forman un cicloalquilo C_{3-6};
R_{10} y R_{11} son, cada uno independientemente, halógeno, hidroxilo, amino, ciano, nitro, alquilo C_{1-4}, halogenoalquilo C_{1-4}, hidroxialquilo C_{1-4}, alcoxi C_{1-4}-alquilo C_{1-4}, amino-alquilo C_{1-4}, alquil C_{1-4}-amino-alquilo C_{1-4}, di(alquil C_{1-4})-amino-alquilo C_{1-4}, alcoxi C_{1-4}, halogenoalcoxi C_{1-4}, alquil C_{1-4}amino o di(alquil C_{1-4})amino;
o cicloalquilo C_{3-6}, donde un átomo de carbono puede estar reemplazado por un átomo de oxígeno, donde el cicloalquilo C_{3-6} puede estar unido directamente o a través de un alquileno C_{1-2}, y donde el cicloalquilo C_{3-6} puede estar sustituido una vez o más de una vez con halógeno;
o dos R_{10} o R_{11} en el mismo átomo del anillo juntos son oxo;
o dos R_{10} o R_{11} en el mismo átomo de carbono del anillo, junto con dicho átomo de carbono, forman un cicloalquilo C_{3-6}.

A menos que se especifique lo contrario, la expresión «compuestos de la invención» se refiere a compuestos de fórmula (I) según se definen en la reivindicación 1 y subfórmulas de estos; sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos; hidratos o solvatos de los compuestos y/o sales; así como tautómeros y compuestos marcados isotópicamente (incluidas las sustituciones con deuterio); así como polimorfos, solvatos y/o hidratos formados inherentemente.

A menos que se indique lo contrario, las expresiones utilizadas en esta divulgación tienen el siguiente significado:

«Alquilo» representa un grupo alquilo de cadena lineal o cadena ramificada y, por ejemplo, puede ser metilo, etilo, *n*- o isopropilo o *n*-, iso-, *sec*- o *tert*-butilo; alquilo C_{2-7} representa preferentemente un alquilo C_{2-4} de cadena lineal o cadena ramificada, dándose preferencia particular a etilo, *n*-propilo, isopropilo y *tert*-butilo. Alquilo C_{1-4} representa preferentemente un alquilo C_{1-3} de cadena lineal o cadena ramificada, dándose preferencia particular a metilo, etilo, *n*-propilo e isopropilo.

Cada parte alquilo de «alcoxi», «halogenoalquilo», «hidroxialquilo», «aminoalquilo», «alcoxialquilo», etcétera tendrá el mismo significado que se describe en la definición de «alquilo» mencionada anteriormente, especialmente en relación con la linealidad y el tamaño preferencial, a menos que el tamaño se especifique adicionalmente.

«Cicloalquilo C_{3-6}» representa un resto alicíclico saturado que tiene de tres a seis átomos de carbono. Este término se refiere a grupos tales como ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y ciclohexilo.

Un sustituyente que está sustituido «una vez o más de una vez», p. ej., tal como se define en relación con R_2, R_4 o R_5, está sustituido preferentemente con de uno a tres sustituyentes. Por lo tanto, «una vez o más de una vez» incluye, sin carácter limitante, uno, dos o tres sustituyentes.

Halógeno es generalmente flúor, cloro, bromo o yodo; preferentemente flúor, cloro o bromo. Los grupos halogenoalquilo tienen preferentemente una longitud de cadena de 1 a 4 átomos de carbono y son, por ejemplo, fluorometilo, difluorometilo, trifluorometilo, clorometilo, diclorometilo, triclorometilo, 2,2,2-trifluoroetilo, 2-fluoroetilo, 2-cloroetilo, pentafluoroetilo, 1,1-difluoro-2,2,2-tricloroetilo, 2,2,2-tricloroetilo, 1,1,2,2-tetrafluoroetilo, 2,2,3,3-tetrafluoropropilo, 2,2,3,3,3-pentafluoropropilo o 2,2,3,4,4,4-hexafluorobutilo.

En el contexto de la divulgación, la definición de R_2 o R_4 como un «sistema anular no aromático, saturado o insaturado, aromático, monocíclico, de tres a siete miembros, donde dicho sistema anular puede contener de 1 a 4 heteroátomos» abarca grupos hidrocarbonados aromáticos o no aromáticos monocíclicos de tres a siete miembros y sistemas anulares heterocíclicos aromáticos o no aromáticos de los mismos tamaños.

Algunos ejemplos de sistemas anulares heterocíclicos son: pirrol, pirrolina, pirrolidina, pirazol, pirazolina, pirazolidina, imidazol, imidazolina, imidazolidina, triazol, triazolina, triazolidina, tetrazol, furano, dihidrofurano, tetrahidrofurano, oxadiazol, dioxolano, tiofeno, dihidrotiofeno, tetrahidrotiofeno, oxazol, oxazolina, oxazolidina, isoxazol, isoxazolina, isoxazolidina, tiazol, tiazolina, tiazolidina, isotiazol, isotiazolina, isotiazolidina, tiadiazol, tiadiazolina, tiadiazolidina, piridina,

piperidina, piridazina, pirazina, pirimidina, piperazina, triazina, pirano, tetrahidropirano, tiopirano, tetrahidrotiopirano, oxazina, tiazina, morfolina.

Los compuestos de fórmula (I) pueden existir en forma ópticamente activa o en forma de mezclas de isómeros ópticos, p. ej., en forma de mezclas racémicas o mezclas diastereoméricas. En particular, en los compuestos de fórmula (I) y sus sales puede haber un átomo o átomos de carbono asimétricos presentes. A menos que se indique lo contrario en la presente, todos los isómeros ópticos y sus mezclas, incluidas las mezclas racémicas, quedan englobados en la divulgación.

El término «isómeros», tal como se utiliza en la presente, se refiere a diferentes compuestos que tienen la misma fórmula molecular, pero difieren en la disposición y configuración de los átomos. La expresión «un isómero óptico» o «un estereoisómero», también como se utiliza en la presente, se refiere a cualquiera de las diversas configuraciones estereoisoméricas que pueden existir para un compuesto dado de la divulgación e incluye isómeros geométricos. Se sobreentiende que un sustituyente puede estar unido a un centro quiral de un átomo de carbono. El término «quiral» se refiere a moléculas que tienen la propiedad de no superponerse a su imagen especular, mientras que el término «aquiral» se refiere a moléculas que se pueden superponer a su imagen especular. Por lo tanto, la divulgación incluye enantiómeros, diastereómeros o racematos del compuesto. Los «enantiómeros» son un par de estereoisómeros cuyas imágenes especulares no se pueden superponer entre sí. Una mezcla 1:1 de un par de enantiómeros es una mezcla «racémica». El término se utiliza para designar una mezcla racémica cuando sea apropiado. Los «diastereoisómeros» son estereoisómeros que tienen al menos dos átomos asimétricos, pero que no son imágenes especulares entre sí. La estereoquímica absoluta se especifica de acuerdo con el sistema *R*-*S* de Cahn-Ingold-Prelog. Cuando un compuesto es un enantiómero puro, la estereoquímica en cada carbono quiral puede especificarse mediante *R* o *S*. Los compuestos resueltos, cuya configuración absoluta es desconocida, pueden designarse (+) o (-) dependiendo de la dirección (dextrógira o levógira) en la que hacen girar la luz polarizada del plano en la longitud de onda de la línea D del sodio. Los compuestos descritos en la presente pueden contener uno o más centros asimétricos y, por lo tanto, pueden dar lugar a enantiómeros, diastereómeros y otras formas estereoisoméricas que pueden definirse, en términos de estereoquímica absoluta, como (*R*)- o (*S*)-. A menos que se proporcione lo contrario en la presente, se pretende que la divulgación incluya todos estos isómeros posibles, incluidas mezclas racémicas, formas ópticamente puras y mezclas intermedias. Se pueden preparar isómeros (*R*) y (*S*) ópticamente activos utilizando sintones quirales o reactivos quirales, o se pueden resolver utilizando técnicas convencionales.

Si el compuesto contiene un doble enlace, el sustituyente puede tener la configuración *E* o *Z*.

Si el compuesto contiene un cicloalquilo disustituido, el sustituyente del cicloalquilo puede tener una configuración *cis* o *trans*.

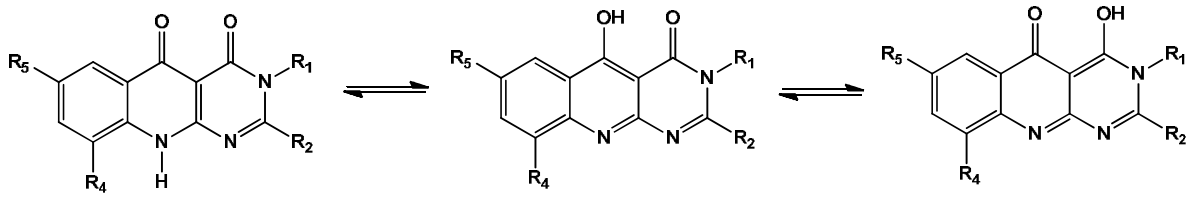
Cualquier átomo asimétrico (p. ej., carbono o similar) del compuesto o compuestos de la divulgación puede estar presente en forma racémica o enriquecida enantioméricamente, por ejemplo, la configuración (*R*), (*S*) o (*R*,*S*). En ciertas realizaciones, cada átomo asimétrico tiene al menos un 50% de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

Por consiguiente, tal como se utiliza en la presente, un compuesto de la invención puede estar en forma de uno de los posibles isómeros, rotámeros, atropisómeros (como realización de la invención incluida dentro de las reivindicaciones), tautómeros o (como divulgación con fines de referencia) mezclas de estos, por ejemplo, como isómeros geométricos (*cis* o *trans*), diastereómeros, isómeros ópticos (enantiómeros), racematos o mezclas de estos sustancialmente puros.

Cualesquiera mezclas resultantes de isómeros se pueden separar, basándose en las diferencias fisicoquímicas de los constituyentes, en los racematos, diastereómeros, isómeros geométricos u ópticos puros o sustancialmente puros, por ejemplo, mediante cromatografía y/o cristalización fraccionada.

Cualesquiera racematos resultantes de productos finales o intermedios se pueden resolver en los enantiómeros ópticos mediante métodos conocidos, p. ej., mediante la separación de las sales diastereoméricas de estos, obtenidas con una base o ácido ópticamente activo, y la liberación del compuesto ácido o básico ópticamente activo. En particular, se puede emplear de este modo un resto básico para resolver los compuestos de la divulgación en sus enantiómeros ópticos, p. ej., mediante la cristalización fraccionada de una sal formada con un ácido ópticamente activo, p. ej., ácido tartárico, ácido dibenzoiltartárico, ácido diacetiltartárico, ácido di-*O*,*O'*-*p*-toluoiltartárico, ácido mandélico, ácido málico o ácido canfor-10-sulfónico. Los productos racémicos también se pueden resolver por cromatografía quiral, p. ej., cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) utilizando un adsorbente quiral.

Dependiendo de la definición del sustituyente, los compuestos de fórmula (I) pueden aparecer en diversas formas tautoméricas. Todas las formas tautoméricas de los compuestos de fórmula (I) quedan englobadas en la invención. Por ejemplo, los compuestos de fórmula I, donde R_1, R_2, R_4 y R_5 son como se definen en la fórmula I, y R_3 es hidrógeno, pueden existir en las formas tautoméricas (IA), (IB) o (IC) :



(IA) (IB) (IC)

Los términos «sal» o «sales», tal como se utilizan en la presente, se refieren a una sal de adición de ácido o base de un compuesto de la invención. Las «sales» incluyen, en particular, «sales farmacéuticamente aceptables». La expresión «sales farmacéuticamente aceptables» se refiere a sales que conservan la efectividad biológica y las propiedades de los compuestos de esta invención y que habitualmente no son indeseadas desde un punto de vista biológico o de otra forma. Los compuestos de la invención pueden ser capaces de formar sales de adición de ácido y/o base en función de la presencia de grupos amino y/o carboxilo (con fines de referencia) o grupos similares a estos.

Las sales farmacéuticamente aceptables de la invención pueden sintetizarse a partir de un resto ácido o básico (con fines de referencia), mediante métodos químicos convencionales. Generalmente, este tipo de sales pueden prepararse (con fines de referencia) haciendo reaccionar formas de ácido libre de estos compuestos con una cantidad estequiométrica de la base apropiada o (para los compuestos de las realizaciones de la invención) haciendo reaccionar formas de base libre de estos compuestos con una cantidad estequiométrica del ácido apropiado. Las reacciones de este tipo normalmente se llevan a cabo en agua o en un disolvente orgánico, o en una mezcla de los dos. Generalmente, cuando sea posible, es deseable el uso de medios no acuosos tales como éter, acetato de etilo, etanol, isopropanol o acetonitrilo. Se pueden encontrar listas de sales adecuadas adicionales, p. ej., en "Remington's Pharmaceutical Sciences", 20.ª ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., (1985); y en "Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use" de Stahl y Wermuth (Wiley-VCH, Weinheim, Alemania, 2002).

Únicamente con fines de referencia, cuando en la misma molécula haya tanto un grupo básico como un grupo ácido presente, los compuestos de la invención también podrán formar sales internas, p. ej., moléculas zwitteriónicas.

También se pretende que cualquier fórmula proporcionada en la presente represente formas no marcadas, así como formas marcadas isotópicamente de los compuestos. Los compuestos marcados isotópicamente tienen estructuras representadas por las fórmulas dadas en la presente, excepto que uno o más átomos se reemplazan por un átomo que tiene una masa atómica o un número másico seleccionado. Los ejemplos de isótopos que pueden incorporarse en los compuestos de la invención incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, flúor y cloro, tales como ^{2}H, ^{3}H, ^{11}C, ^{13}C, ^{14}C, ^{15}N, ^{18}F ^{31}P, ^{32}P, ^{35}S, ^{36}Cl, ^{125}I, respectivamente. La invención incluye diversos compuestos marcados isotópicamente tal como se definen en la presente, por ejemplo, aquellos en los que están presentes isótopos radiactivos tales como ^{3}H y ^{14}C, o aquellos en los que están presentes isótopos no radiactivos tales como ^{2}H y ^{13}C. Tales compuestos marcados isotópicamente son útiles en estudios metabólicos (con ^{14}C), estudios de la cinética de reacción (con, por ejemplo, ^{2}H o ^{3}H), técnicas de detección o de obtención de imágenes, tales como la tomografía por emisión de positrones (PET) o la tomografía computarizada de emisión monofotónica (SPECT), que incluyen ensayos de distribución tisular de fármacos o sustratos, o en el tratamiento radiactivo de pacientes. En particular, un compuesto marcado con ^{18}F puede ser particularmente deseable para estudios de PET o SPECT. Generalmente se pueden preparar compuestos de fórmula (I) marcados isotópicamente mediante técnicas convencionales conocidas por los expertos en la técnica o mediante procesos análogos a los descritos en los Ejemplos y Preparaciones adjuntos utilizando un reactivo marcado isotópicamente apropiado en lugar del reactivo no marcado empleado previamente.

Además, la sustitución con isótopos más pesados, particularmente deuterio (es decir, ^{2}H o D), puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas como resultado de una mayor estabilidad metabólica, por ejemplo, una mayor semivida *in vivo* o requisitos de dosificación reducida o una mejora en el índice terapéutico. Se sobreentiende que el deuterio en este contexto se considera un sustituyente de un compuesto de fórmula (I). La concentración de un isótopo más pesado de este tipo, específicamente deuterio, se puede definir por el factor de enriquecimiento isotópico. El término «factor de enriquecimiento isotópico», tal como se utiliza en la presente, significa la relación entre la abundancia isotópica y la abundancia natural de un isótopo específico. Si un sustituyente en un compuesto de esta invención se denomina deuterio, dicho compuesto tendrá un factor de enriquecimiento isotópico para cada átomo de deuterio designado de al menos 3500 (52.5% de incorporación de deuterio en cada átomo de deuterio designado), al menos 4000 (60% de incorporación de deuterio), al menos 4500 (67.5% de incorporación de deuterio), al menos 5000 (75% de incorporación de deuterio), al menos 5500 (82.5% de incorporación de deuterio), al menos 6000 (90% de incorporación de deuterio), al menos 6333.3 (95% de incorporación de deuterio), al menos 6466.7 (97% de incorporación de deuterio), al menos 6600 (99% de incorporación de deuterio) o al menos 6633.3 (99.5% de incorporación de deuterio).

Algunos solvatos farmacéuticamente aceptables de acuerdo con la invención incluyen aquellos en los que el disolvente de cristalización puede estar sustituido con isótopos, p. ej., D_2O, d_6-acetona, d_6-DMSO.

Los compuestos de la invención que contienen grupos capaces de actuar como dadores y/o aceptadores para puentes de hidrógeno pueden ser capaces de formar cocristales con formadores de cocristales adecuados. Estos cocristales se pueden preparar a partir de compuestos de fórmula (I) mediante procedimientos de formación de cocristales conocidos. Tales procedimientos incluyen moler, calentar, cosublimar, cofundir o poner en contacto en disolución los compuestos de fórmula (I) con el formador de cocristales en condiciones de cristalización y aislar los cocristales formados de este modo. Los formadores de cocristales adecuados incluyen los descritos en el documento WO 2004/078163. Por lo tanto, la invención proporciona, además, cocristales que comprenden un compuesto de fórmula (I).

La divulgación también contempla el uso de profármacos de los compuestos de la invención que se convierten *in vivo* en los compuestos de la divulgación. Un profármaco es un compuesto activo o inactivo que se modifica químicamente a través de la acción fisiológica *in vivo*, tal como la hidrólisis, el metabolismo y similares, para obtener un compuesto de la invención después de la administración del profármaco a un sujeto. Los expertos en la técnica conocen bien la idoneidad y las técnicas implicadas en la fabricación y el uso de profármacos. Los profármacos se pueden dividir conceptualmente en dos categorías no exclusivas, profármacos bioprecursores y profármacos portadores. Remítase a *The Practice of Medicinal Chemistry*, Cap. 31-32 (Ed. Wermuth, Academic Press, San Diego, Calif., 2001).

Además, los compuestos de la invención, incluidas sus sales, también pueden obtenerse en forma de sus hidratos, o pueden incluir otros disolventes utilizados para su cristalización. Los compuestos de la invención pueden formar, inherentemente o por diseño, solvatos con disolventes farmacéuticamente aceptables (incluida el agua); por lo tanto, se pretende que la invención abarque tanto formas solvatadas como no solvatadas. El término «solvato» se refiere a un complejo molecular de un compuesto de la invención (incluidas sus sales farmacéuticamente aceptables) con una o más moléculas de disolvente. Tales moléculas de disolvente son aquellas utilizadas comúnmente en el campo farmacéutico, de las que se tiene constancia que son inocuas para el receptor, p. ej., agua, etanol y similares. El término «hidrato» se refiere al complejo donde la molécula de disolvente es agua. Los compuestos de la invención, incluidas las sales, hidratos y solvatos de estos, pueden formar, inherentemente o por diseño, polimorfos.

La definición de los sustituyentes se aplica a los productos finales, así como a los intermedios correspondientes.

En la presente se describen varias realizaciones de la invención. Se reconocerá que las características especificadas en cada realización se pueden combinar con otras características especificadas para proporcionar realizaciones adicionales de la presente invención.

Realización 1. Un compuesto de fórmula (I) en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable según se define en las reivindicaciones.

Realización 2. (Divulgación de referencia) Un compuesto de fórmula (I) en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable, donde R_1 es un anillo seleccionado entre pirazolilo, tiofenilo o piridin-2-ilo, donde el anillo puede estar sustituido con alquilo C_1-C_3;
y
R_2 es alquilo C_{2-7} que puede estar sustituido una vez o más de una vez con R_6;
o R_2 es -X_1-R_7; -X_1- es -O-, -S- o -N(R_8)-; R_8 es hidrógeno o alquilo C_{1-4}; y R_7 es alquilo C_{1-6} que puede estar sustituido una vez o más de una vez con R_9;
o R_2 es un sistema anular no aromático, saturado o insaturado, monocíclico, de tres a cinco miembros, donde dicho sistema anular puede contener de 1 a 4 heteroátomos seleccionados entre nitrógeno, oxígeno y azufre, y donde dicho sistema anular puede estar sustituido una vez o más de una vez con R_{10};
R_3 es hidrógeno o -CH_2R_{12};
R_{12} es hidrógeno, alquilo C_{1-4}, alquenilo C_{2-6}, cicloalquilo C_{3-6}, alcoxi C_{1-3}-alquilo C_{1-3}, hidroxialquilo C_{1-3} o aminoalquilo C_{1-3};
y
R_4 es hidrógeno, halógeno, hidroxilo, amino, ciano, alquilo C_{1-4}, halogenoalquilo C_{1-4}, hidroxialquilo C_{1-4}, alcoxi C_{1-4}-alquilo C_{1-4}, amino-alquilo C_{1-4}, alquil C_{1-4}-amino-alquilo C_{1-4}, di(alquil C_{1-4})-amino-alquilo C_{1-4}, alcoxi C_{1-4}, halogenoalcoxi C_{1-4}, alquil C_{1-4}amino o di(alquil C_{1-4})amino;
o un sistema anular no aromático, saturado o insaturado, aromático, monocíclico, de tres a siete miembros, donde dicho sistema anular puede contener de 1 a 4 heteroátomos seleccionados entre nitrógeno, oxígeno y azufre, donde dicho sistema anular puede estar unido directamente o a través de un alquileno C_{1-2}, y donde dicho sistema anular puede estar sustituido una vez o más de una vez con R_{11};
o
R_3 y R_4, considerados conjuntamente, son -CH_2-CH_2-;
R_5 es hidrógeno, halógeno, hidroxilo, ciano, alquilo C_{1-4}, alquenilo C_{2-4}, alquinilo C_{2-4} o alcoxi C_{1-4}; o cicloalquilo C_{3-4}, en donde un átomo de carbono puede estar reemplazado por un átomo de oxígeno, en donde el cicloalquilo C_{3-4} puede estar unido directamente o a través de un alquileno C_{1-2};
R_6 y R_9 son, cada uno independientemente, halógeno, hidroxilo, amino, ciano, nitro, alcoxi C_{1-4}, halogenoalcoxi C_{1-4}, alquil C_{1-4}amino o di(alquil C_{1-4})amino;

o cicloalquilo C_{3-6}, donde un átomo de carbono puede estar reemplazado por un átomo de oxígeno, donde el cicloalquilo C_{3-6} puede estar unido directamente o a través de un alquileno C_{1-2}, y donde el cicloalquilo C_{3-6} puede estar sustituido una vez o más de una vez con halógeno;
o dos R_6 o R_9 en el mismo átomo de carbono juntos son oxo;
o dos R_6 o R_9 en el mismo átomo de carbono, junto con dicho átomo de carbono, forman un cicloalquilo C_{3-6};
R_{10} y R_{11} son, cada uno independientemente, halógeno, hidroxilo, amino, ciano, nitro, alquilo C_{1-4}, halogenoalquilo C_{1-4}, hidroxialquilo C_{1-4}, alcoxi C_{1-4}-alquilo C_{1-4}, amino-alquilo C_{1-4}, alquil C_{1-4}-amino-alquilo C_{1-4}, di(alquil C_{1-4})-amino-alquilo C_{1-4}, alcoxi C_{1-4}, halogenoalcoxi C_{1-4}, alquil C_{1-4}amino o di(alquil C_{1-4})amino;
o cicloalquilo C_{3-6}, donde un átomo de carbono puede estar reemplazado por un átomo de oxígeno, donde el cicloalquilo C_{3-6} puede estar unido directamente o a través de un alquileno C_{1-2}, y donde el cicloalquilo C_{3-6} puede estar sustituido una vez o más de una vez con halógeno;
o dos R_{10} o R_{11} en el mismo átomo del anillo juntos son oxo;
o dos R_{10} o R_{11} en el mismo átomo de carbono del anillo, junto con dicho átomo de carbono, forman un cicloalquilo C_{3-6}.

Realización 3. Un compuesto de fórmula (I) en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable de acuerdo con la realización 1 o (únicamente con fines de referencia) 2, donde R_1 es piridin-2-ilo que puede estar sustituido con alquilo C_1-C_3.

Realización 4. Un compuesto de fórmula (I) en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable de acuerdo con la realización 1 o (únicamente con fines de referencia) 2, donde R_1 es tiofenilo que puede estar sustituido con alquilo C_1-C_3.

Realización 5. Un compuesto de fórmula (I) en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable de acuerdo con la realización 4, donde R_1 es tiofen-3-ilo.

Realización 6. Un compuesto de fórmula (I) en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable de acuerdo con la realización 1 o (únicamente con fines de referencia) 2, donde R_1 es pirazolilo que puede estar sustituido con alquilo C_1-C_3.

Realización 7. Un compuesto de fórmula (I) en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable de acuerdo con la realización 6, donde R_1 es un pirazol-3-ilo.

Realización 8. Un compuesto de fórmula (I) en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable de acuerdo con la realización 6 o 7, donde R_1 está sustituido con metilo.

Realización 9. Un compuesto de fórmula (I) en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable de acuerdo con la realización 6, donde R_1 es un pirazol-5-ilo.

Realización 10. Un compuesto de fórmula (I) en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable de acuerdo con la realización 9, donde R_1 es pirazol-5-ilo que no está sustituido.

Realización 11. (Divulgación de referencia) Un compuesto de fórmula (I) en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 1 a 10, donde R_2 es alquilo C_2-C_7.

Realización 12. Un compuesto de fórmula (I) en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable de acuerdo con la realización 11, donde R_2 es alquilo C_2-C_3.

Realización 13. Un compuesto de fórmula (I) en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable de acuerdo con la realización 12, donde R_2 es *n*-propilo.

Realización 14. Un compuesto de fórmula (I) en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable de acuerdo con la realización 12, donde R_2 es isopropilo.

Realización 15. (Divulgación de referencia) Un compuesto de fórmula (I) en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 1 a 10, donde R_2 es un sistema anular no aromático, saturado o insaturado, monocíclico, de tres a siete miembros, donde dicho sistema anular puede contener de 1 a 4 heteroátomos seleccionados entre nitrógeno, oxígeno y azufre.

Realización 16. (Divulgación de referencia) Un compuesto de fórmula (I) en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable de acuerdo con la realización 15, donde R_2 es un sistema anular no aromático, saturado o insaturado, monocíclico, de cuatro a seis miembros, donde dicho sistema anular puede contener de 1 a 4 heteroátomos seleccionados entre nitrógeno, oxígeno y azufre.

Realización 17. Un compuesto de fórmula (I) en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable de acuerdo con la realización 16, donde R_2 es ciclobutilo.

Realización 18. (Divulgación de referencia) Un compuesto de fórmula (I) en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 1 a 17, donde R_3 es hidrógeno o $-CH_2R_{12}$; y R_{12} es hidrógeno, alquilo C_{1-4}, alquenilo C_{2-6} o cicloalquilo C_{3-6}.

Realización 19. Un compuesto de fórmula (I) en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable de acuerdo con la realización 18, donde R_3 es hidrógeno.

Realización 20. Un compuesto de fórmula (I) en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable de acuerdo con la realización 18, donde R_3 es metilo.

Realización 21. (Divulgación de referencia) Un compuesto de fórmula (I) en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 1 a 17, donde R_3 y R_4 considerados conjuntamente son $-CH_2-CH_2-$.

Realización 22. (Divulgación de referencia) Un compuesto de fórmula (I) en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 1 a 20, donde R_4 es hidrógeno, halógeno, hidroxilo, amino, ciano, alquilo C_{1-4}, halogenoalquilo C_{1-4}, hidroxialquilo C_{1-4}, alcoxi C_{1-4}-alquilo C_{1-4}, amino-alquilo C_{1-4}, alquil C_{1-4}-amino-alquilo C_{1-4}, di(alquil C_{1-4})-amino-alquilo C_{1-4}, alcoxi C_{1-4}, halogenoalcoxi C_{1-4}, alquil C_{1-4}amino o di(alquil C_{1-4})amino.

Realización 23. Un compuesto de fórmula (I) en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable de acuerdo con la realización 22, donde R_4 es hidrógeno.

Realización 24. (Divulgación de referencia) Un compuesto de fórmula (I) en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable de acuerdo con la realización 22, donde R_4 es un sistema anular no aromático, saturado o insaturado, aromático, monocíclico, de tres a siete miembros, donde dicho sistema anular puede contener de 1 a 4 heteroátomos seleccionados entre nitrógeno, oxígeno y azufre, y donde dicho sistema anular puede estar unido directamente o a través de un alquileno C_{1-2}.

Realización 25. Un compuesto de fórmula (I) de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 1 a 24, en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable, donde R_5 es hidrógeno.

Realización 26. Un compuesto de fórmula (I) en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable de acuerdo con la reivindicación 1, que se selecciona entre
2-isopropil-10-metil-3-(1*H*-pirazol-3-il)pirimido[4,5-*b*]quinolin-4,5(3*H*,10*H*)-diona;
10-metil-2-propil-3-(piridin-2-il)pirimido[4,5-*b*]quinolin-4,5(3*H*,10*H*)-diona;
10-metil-3-(1-metil-1*H*-pirazol-3-il)-2-propilpirimido[4,5-*b*]quinolin-4,5(3*H*,10*H*)-diona;
2-isopropil-10-metil-3-(1-metil-1*H*-pirazol-3-il)pirimido[4,5-*b*]quinolin-4,5(3*H*,10*H*)-diona;
2-isopropil-10-metil-3-(tiofen-3-il)pirimido[4,5-*b*]quinolin-4,5(3*H*,10*H*)-diona;
2-isopropil-10-metil-3-(piridin-4-il)pirimido[4,5-*b*]quinolin-4,5(3*H*,10*H*)-diona;
2-isopropil-10-metil-3-(piridin-2-il)pirimido[4,5-*b*]quinolin-4,5(3*H*,10*H*)-diona; y
2-ciclobutil-10-metil-3-(piridin-2-il)pirimido[4,5-*b*]quinolin-4,5(3*H*,10*H*)-diona.

Realización 27. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de acuerdo con la realización 1 y uno o más portadores farmacéuticamente aceptables.

Realización 28. Una combinación que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de acuerdo con la realización 1 y uno o más agentes terapéuticamente activos.

Realización 29. Un compuesto de acuerdo con la realización 1 en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable para su uso como medicamento.

Realización 30. Una composición farmacéutica de acuerdo con la realización 27 para su uso como medicamento.

Realización 31. Una combinación de acuerdo con la realización 28 para su uso como medicamento.

Realización 32. Un compuesto de acuerdo con la realización 1 en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable para su uso en el tratamiento de una enfermedad provocada por una mutación finalizadora.

Realización 33. Una composición farmacéutica de acuerdo con la realización 27 para su uso en el tratamiento de una enfermedad provocada por una mutación finalizadora.

Realización 34. Una combinación de acuerdo con la realización 28 para su uso en el tratamiento de una enfermedad provocada por una mutación finalizadora.

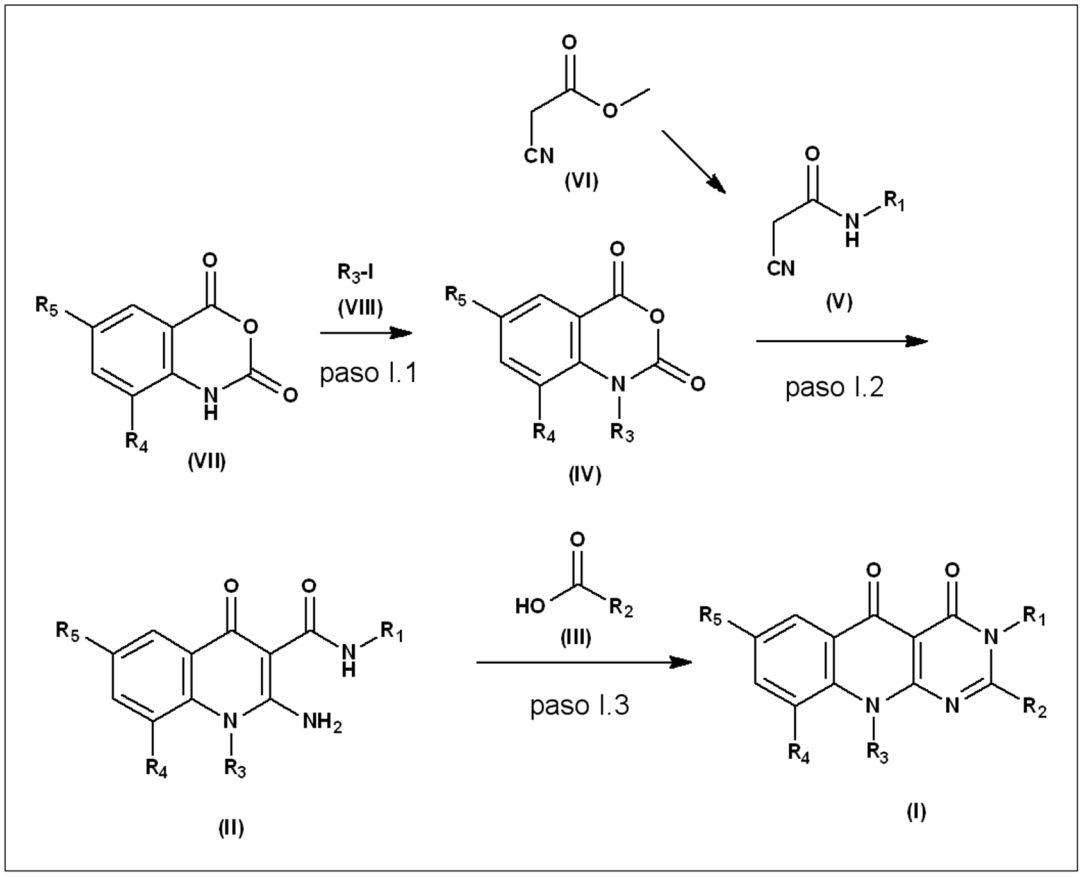
Realización 35. Un compuesto para su uso de acuerdo con la realización 32, donde la enfermedad se selecciona entre hemofilia A, hemofilia B, fibrosis quística, mucopolisacaridosis I, distrofia muscular de Duchenne, distrofia muscular de Becker, cáncer provocado por pérdida de APC y cáncer provocado por pérdida de p53.

Realización 36. Una composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la realización 33, donde la enfermedad se selecciona entre hemofilia A, hemofilia B, fibrosis quística, mucopolisacaridosis I, distrofia muscular de Duchenne, distrofia muscular de Becker, cáncer provocado por pérdida de APC y cáncer provocado por pérdida de p53.

Realización 37. Una combinación para su uso de acuerdo con la realización 34, donde la enfermedad se selecciona entre hemofilia A, hemofilia B, fibrosis quística, mucopolisacaridosis I, distrofia muscular de Duchenne, distrofia muscular de Becker, cáncer provocado por pérdida de APC y cáncer provocado por pérdida de p53.

Los compuestos de fórmula (I) se pueden preparar mediante procesos convencionales, p. ej., según se describe en los Ejemplos.

Habitualmente, los compuestos de fórmula (I) se pueden preparar de acuerdo con los Esquemas I y II que se proporcionan a continuación.

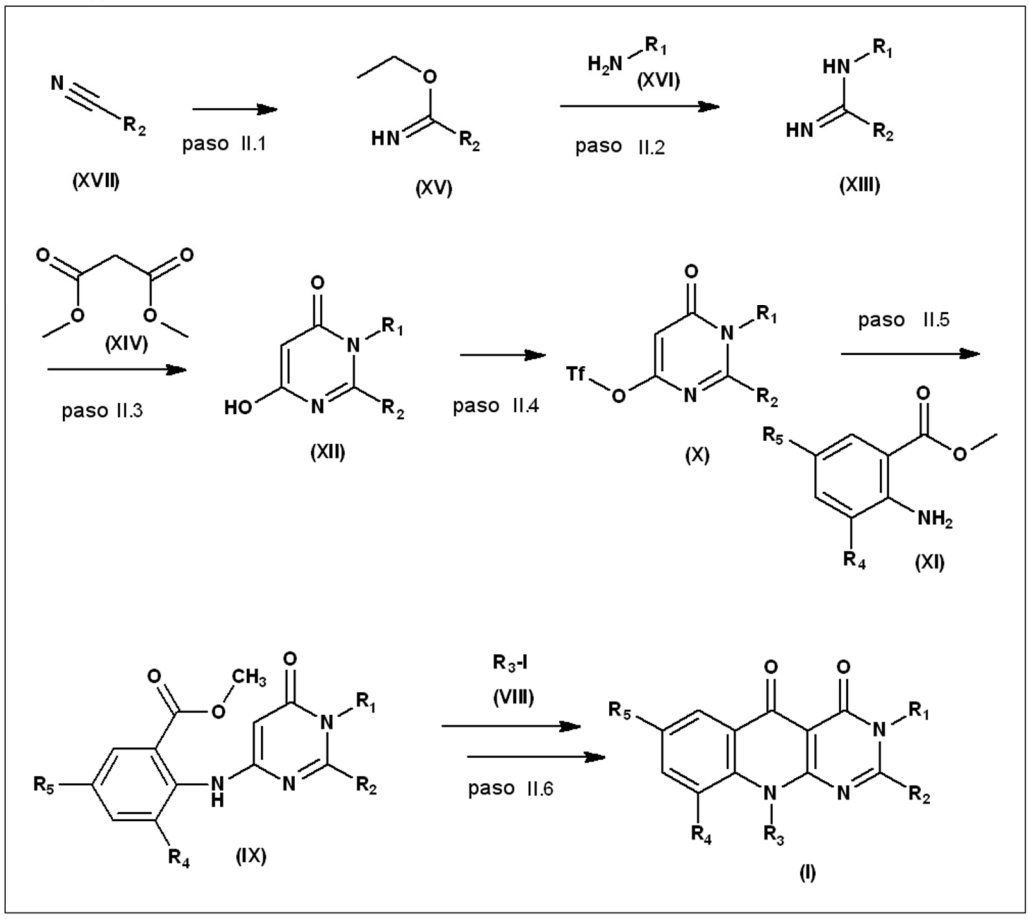


Esquema I

Los pasos del proceso se describen a continuación con más detalles:

Paso I.1: Un compuesto de fórmula (IV), donde R_3, R_4 y R_5 son como se definen en la presente respecto a un compuesto de fórmula (I), se puede obtener haciendo reaccionar un compuesto de fórmula (VII), donde R_4 y R_5 son como se definen respecto a un compuesto de fórmula (I), con un compuesto de fórmula (VIII) en un disolvente adecuado tal como DMF.
Paso I.2: Un compuesto de fórmula (II), donde R_1, R_3, R_4 y R_5 son como se definen en la presente respecto a un compuesto de fórmula (I), se puede obtener haciendo reaccionar un compuesto de fórmula (V), donde R_1 es como se define en la presente respecto a un compuesto de fórmula (I), en un disolvente adecuado tal como NMP. Un compuesto de fórmula (V), donde R_1 es como se define en la presente respecto a un compuesto de fórmula (I), se puede obtener haciendo reaccionar un compuesto de fórmula (VI) con un compuesto que sea R_1-NH_2, donde R_1 es como se define en la presente respecto a un compuesto de fórmula (I), ya sea mediante una reacción sin disolvente o en un disolvente adecuado tal como NMP.
Paso I.3: Un compuesto de fórmula (I), donde R_1, R_2, R_3, R_4 y R_5 son como se definen en la presente, se puede obtener haciendo reaccionar un compuesto de fórmula (II), donde R_1, R_3, R_4 y R_5 son como se definen en la presente respecto a

un compuesto de fórmula (I), con un compuesto de fórmula (III), donde R_2 es como se define respecto a un compuesto de fórmula (I), en un disolvente adecuado tal como DMF.



Esquema II

Los pasos del proceso se describen a continuación con más detalles:

Paso II.1: Un compuesto de fórmula (XV), donde R_2 es como se define en la presente respecto a un compuesto de fórmula (I), se puede obtener mediante la reacción de un compuesto de fórmula (XVII), donde R_2 es como se define en la presente respecto a un compuesto de fórmula (I), con etanol en presencia de cloruro de acetilo puro.

Paso II.2: Un compuesto de fórmula (XIII), donde R_1 y R_2 son como se definen en la presente respecto a un compuesto de fórmula (I), se puede obtener haciendo reaccionar un compuesto de fórmula (XV), donde R_2 es como se define en la presente respecto a un compuesto de fórmula (I) , con un compuesto de fórmula (XVI), donde R_1 es como se define en la presente respecto a un compuesto de fórmula (I), en un disolvente adecuado tal como acetonitrilo.

Paso II.3: Un compuesto de fórmula (XII), donde R_1 y R_2 son como se definen en la presente respecto a un compuesto de fórmula (I), se puede obtener haciendo reaccionar un compuesto de fórmula (XIII), donde R_1 y R_2 son como se definen en la presente respecto a compuesto de fórmula (I), con un compuesto de fórmula (XIV) en un disolvente adecuado tal como metoxietanol.

Paso II.4: Un compuesto de fórmula (X), donde R_1 y R_2 son como se definen en la presente respecto a un compuesto de fórmula (I), se puede obtener haciendo reaccionar un compuesto de fórmula (XII), donde R_1 y R_2 son como se definen en la presente respecto a compuesto de fórmula (I), con un reactivo tal como anhídrido de triflato en un disolvente adecuado tal como DCM.

Paso II.5: Un compuesto de fórmula (IX), donde R_1, R_2, R_4 y R_5 son como se definen en la presente respecto a un compuesto de fórmula (I), se puede obtener haciendo reaccionar un compuesto de fórmula (X), donde R_1 y R_2 son como se definen en la presente respecto a un compuesto de fórmula (I), con un compuesto de fórmula (XI), donde R_4 y R_5 son como se definen en la presente respecto a un compuesto de fórmula (I), en un disolvente adecuado tal como dioxano.

Paso II.6: Un compuesto de fórmula (I), donde R_1, R_2, R_3, R_4 y R_5 son como se definen en la presente, se puede obtener haciendo reaccionar un compuesto de fórmula (IX), donde R_1, R_2, R_4 y R_5 son como se definen en la presente respecto a un compuesto de fórmula (I), con un compuesto de fórmula (VIII), donde R_3 es como se define en la presente respecto a un compuesto de fórmula (I), y mediante ciclación en un disolvente adecuado tal como el ácido polifosfórico.

En un aspecto adicional, la divulgación se refiere a un proceso para la preparación de un compuesto de fórmula (I), en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable, que comprende los pasos de:

a) hacer reaccionar un compuesto de fórmula (II) con un compuesto de fórmula (III) para obtener un compuesto de fórmula (I)
b) recuperar el compuesto que se puede obtener de este modo de fórmula (I) en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable.

En un aspecto adicional, la divulgación se refiere a un proceso para la preparación de un compuesto de fórmula (I), en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable, que comprende los pasos de:

a) hacer reaccionar un compuesto de fórmula (IX) con un compuesto de fórmula (VIII) y ciclar para obtener un compuesto de fórmula (I)
b) recuperar el compuesto que se puede obtener de este modo de fórmula (I) en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable.

Además, los compuestos de fórmula (I) o sus precursores pueden obtenerse a partir de compuestos que se describen en los Ejemplos, p. ej., por reducción, oxidación y/u otra funcionalización de los compuestos resultantes y/o por escisión de cualquier grupo o grupos protectores presentes opcionalmente, y se recupera el compuesto que se puede obtener de este modo de fórmula (I) o el precursor deseado. Las reacciones pueden efectuarse de acuerdo con métodos convencionales, por ejemplo, tal como se describe en los Ejemplos. El tratamiento de las mezclas de reacción y la purificación de los compuestos que se pueden obtener de este modo se pueden llevar a cabo de acuerdo con procedimientos conocidos. Se pueden producir sales de adición de ácido a partir de las bases libres de manera conocida y (como divulgación de referencia) viceversa. Los materiales de partida, p. ej., los materiales de partida tal como se describen en los Ejemplos, pueden ser conocidos o se pueden preparar de acuerdo con procedimientos convencionales a partir de compuestos conocidos.

La invención también contempla que los compuestos de fórmula (I) se pueden formar mediante la biotransformación *in vivo* de profármacos.

En otro aspecto, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la invención y un portador farmacéuticamente aceptable. La composición farmacéutica puede formularse para vías de administración particulares tales como la administración oral, administración parenteral y administración rectal, etc. Además, las composiciones farmacéuticas de la invención se pueden preparar en forma sólida, que incluye cápsulas, comprimidos, píldoras, gránulos, polvos o supositorios, o en forma líquida, que incluye soluciones, suspensiones o emulsiones. Las composiciones farmacéuticas se pueden someter a operaciones farmacéuticas convencionales tales como esterilización y/o pueden contener diluyentes inertes, agentes lubricantes o agentes tamponantes convencionales, así como adyuvantes, tales como conservantes, estabilizantes, humectantes, emulsionantes y tampones, etc.

Habitualmente, las composiciones farmacéuticas son comprimidos y cápsulas de gelatina que comprenden el principio activo junto con

a) diluyentes, p. ej., lactosa, dextrosa, sacarosa, manitol, sorbitol, celulosa y/o glicina;
b) lubricantes, p. ej., sílice, talco, ácido esteárico, su sal de magnesio o calcio y/o polietilenglicol; para comprimidos también
c) aglutinantes, p. ej., silicato de magnesio y aluminio, pasta de almidón, gelatina, tragacanto, metilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica y/o polivinilpirrolidona; si se desea
d) desintegrantes, p. ej., almidones, agar, ácido algínico o su sal de sodio, o mezclas efervescentes; y/o
e) absorbentes, colorantes, aromas y edulcorantes.

Los comprimidos pueden estar recubiertos con películas o recubiertos de forma entérica de acuerdo con métodos conocidos en la técnica.

Las composiciones adecuadas para administración oral incluyen una cantidad eficaz de un compuesto de la invención en forma de comprimidos, grageas, suspensiones acuosas u oleosas, polvos o gránulos dispersables, emulsiones, cápsulas duras o blandas, o jarabes o elixires. Las composiciones destinadas a uso oral se preparan de acuerdo con cualquier método conocido en la técnica para la fabricación de composiciones farmacéuticas, y las composiciones de este tipo pueden contener uno o más agentes seleccionados del grupo constituido por agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes colorantes y agentes conservantes con el fin de proporcionar preparados farmacéuticamente refinados y de gusto agradable. Los comprimidos contienen el principio activo mezclado con excipientes farmacéuticamente aceptables atóxicos que son adecuados para la fabricación de comprimidos. Estos excipientes son, por ejemplo, diluyentes inertes, tales como carbonato de calcio, carbonato de sodio, lactosa, fosfato de calcio o fosfato de sodio; agentes granulantes y desintegrantes, por ejemplo, almidón de maíz o ácido algínico; agentes aglutinantes, por ejemplo, almidón, gelatina o acacia; y agentes lubricantes, por ejemplo, estearato de magnesio, ácido esteárico o talco. Los comprimidos no se recubren o se recubren mediante técnicas conocidas para retrasar la desintegración y la absorción en el tracto gastrointestinal y, por lo tanto, proporcionar una acción sostenida durante un periodo más largo. Por ejemplo, se puede emplear un material de retraso temporal tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo. Las formulaciones para uso oral se pueden presentar como cápsulas de gelatina dura, en las que el principio activo se mezcla con un diluyente sólido inerte, por ejemplo, carbonato de calcio, fosfato de calcio o caolín, o como cápsulas de gelatina

blanda, donde el principio activo se mezcla con agua o un medio oleoso, por ejemplo, aceite de cacahuete, parafina líquida o aceite de oliva.

Determinadas composiciones inyectables son soluciones o suspensiones isotónicas acuosas, y los supositorios se preparan convenientemente a partir de emulsiones o suspensiones grasas. Dichas composiciones pueden esterilizarse y/o contener adyuvantes tales como agentes conservantes, estabilizantes, humectantes o emulsionantes, promotores de disolución, sales para regular la presión osmótica y/o tampones. Además, también pueden contener otras sustancias valiosas desde el punto de vista terapéutico. Dichas composiciones se preparan de acuerdo con métodos convencionales de mezcla, granulación o recubrimiento, respectivamente, y contienen aproximadamente un 0.1-75%, o contienen aproximadamente un 1-50%, del principio activo.

Las composiciones adecuadas para aplicación transdérmica incluyen una cantidad eficaz de un compuesto de la invención con un portador. Los portadores incluyen disolventes farmacológicamente aceptables absorbibles para facilitar el paso a través de la piel del hospedador. Por ejemplo, los dispositivos transdérmicos adoptan la forma de un vendaje que comprende un miembro de refuerzo, un depósito que contiene el compuesto opcionalmente con portadores, opcionalmente una barrera que controla la velocidad para suministrar el compuesto de la piel del hospedador a una velocidad controlada y predeterminada durante un periodo de tiempo prolongado, y un medio para asegurar el dispositivo a la piel.

Las composiciones adecuadas para aplicación tópica, p. ej., a la piel y los ojos, incluyen soluciones acuosas, suspensiones, ungüentos, cremas, geles o formulaciones pulverizables, p. ej., para el suministro por aerosol o similares. Dichos sistemas de suministro tópico serán particularmente apropiados para la aplicación dérmica, p. ej., para el tratamiento del cáncer de piel, p.ej., para uso profiláctico en lociones, aerosoles, cremas de protección solar y similares. Por lo tanto, son particularmente adecuados para su uso en formulaciones tópicas, incluidas las cosméticas, muy conocidas en la técnica. Estas pueden contener solubilizantes, estabilizantes, agentes potenciadores de la tonicidad, tampones y conservantes.

Tal como se utiliza en la presente, una aplicación tópica también puede referirse a una inhalación o a una aplicación intranasal. Se administran convenientemente en forma de un polvo seco (ya sea solo, en forma de una mezcla, por ejemplo, una mezcla seca con lactosa, o una partícula de componente mixto, por ejemplo, con fosfolípidos) desde un inhalador de polvo seco o una presentación de espray en aerosol desde un recipiente a presión, bomba, pulverizador, atomizador o nebulizador, con o sin el uso de un propelente adecuado.

La invención proporciona, además, composiciones farmacéuticas y formas farmacéuticas anhidras que comprenden los compuestos de la invención como principios activos, ya que el agua puede facilitar la degradación de determinados compuestos.

Las composiciones farmacéuticas y las formas farmacéuticas anhidras de la invención se pueden preparar utilizando ingredientes anhidros o que contengan poca humedad, y condiciones de baja humectación o baja humedad. Una composición farmacéutica anhidra se puede preparar y almacenar de manera que mantenga su naturaleza anhidra. Por consiguiente, las composiciones anhidras se envasan preferentemente utilizando materiales que se sabe que evitan la exposición al agua, de manera que puedan incluirse en kits de formularios adecuados. Los ejemplos de envases adecuados incluyen, sin carácter limitante, envases de láminas metálicas selladas herméticamente, plásticos, recipientes de dosis unitarias (p. ej., viales), envases tipo blíster y tiras.

La invención proporciona, además, composiciones farmacéuticas y formas farmacéuticas que comprenden uno o más agentes que reducen la velocidad a la que se descompondrá el compuesto de la invención como un principio activo. Dichos agentes, a los que se hace referencia en la presente como «estabilizantes», incluyen, sin carácter limitante, antioxidantes, tales como ácido ascórbico, tampones de pH o tampones salinos, etc.

La expresión «portador farmacéuticamente aceptable», tal como se utiliza en la presente, incluye todos y cada uno de los disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, surfactantes, antioxidantes, conservantes (p. ej., agentes antibacterianos, agentes antifúngicos), agentes isotónicos, agentes retardantes de la absorción, sales, conservantes, fármacos, estabilizantes de fármacos, aglutinantes, excipientes, agentes disgregantes, lubricantes, agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, colorantes, materiales similares y combinaciones de estos, que conocerían los expertos en la técnica (remítase, por ejemplo, a *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18.ª ed. Mack Printing Company, 1990, págs. 1289-1329). Salvo en lo que concierne a cualquier portador convencional que sea incompatible con el principio activo, se contempla su uso en las composiciones terapéuticas o farmacéuticas.

Los compuestos de fórmula (I) o sales farmacéuticamente aceptables de estos exhiben valiosas propiedades farmacológicas y, por lo tanto, son útiles como productos farmacéuticos.

Además, los compuestos de fórmula (I) pueden ser útiles para la investigación de enfermedades provocadas por mutaciones finalizadoras, p. ej., como compuestos de herramienta.

En particular, los compuestos de fórmula (I) actúan como supresores de mutaciones finalizadoras en PTC frecuentes, p. ej., en Y122X en el ARNm de la proteína reguladora de la conductancia de la fibrosis quística (CFTR). Esto se puede determinar *in vitro*, por ejemplo, utilizando líneas celulares que expresan constructos de GFP-CFTR-Y122X-Renilla tal como se describe en la presente.

Los compuestos de la invención pueden, por lo tanto, ser útiles en la prevención, el tratamiento o el retraso de la progresión de enfermedades provocadas por mutaciones finalizadoras.
La expresión «enfermedad provocada por una mutación finalizadora» es conocida en el sector. Se refiere a una enfermedad que está presente en pacientes portadores de una mutación finalizadora en un gen relevante para la enfermedad, donde la mutación finalizadora provoca una carencia parcial/total de proteína que luego provoca la patología de la enfermedad.

En una realización, la enfermedad se selecciona entre hemofilia A, hemofilia B, fibrosis quística, mucopolisacaridosis I, distrofia muscular de Duchenne, distrofia muscular de Becker, cáncer provocado por pérdida de APC y cáncer provocado por pérdida de p53.

Para las indicaciones mencionadas anteriormente (las condiciones y los trastornos), la dosificación apropiada variará dependiendo, por ejemplo, del compuesto empleado, del hospedador, del modo de administración y de la naturaleza y gravedad de la afección que se esté tratando. Sin embargo, en general, se indica que se obtienen resultados satisfactorios en animales con una dosificación diaria de aproximadamente 0.01 a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal, preferentemente de aproximadamente 0.1 a aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal, p. ej., 1 mg/kg. En mamíferos más grandes, por ejemplo, seres humanos, una dosificación diaria indicada está en el intervalo de aproximadamente 0.1 a aproximadamente 1000 mg, preferentemente de aproximadamente 1 a aproximadamente 400 mg, aún más preferentemente de aproximadamente 10 a aproximadamente 100 mg del compuesto de la invención administrado convenientemente, por ejemplo, en dosis divididas hasta cuatro veces al día.

Para su uso de acuerdo con la divulgación, un compuesto de la invención se puede administrar como un único agente activo o combinado con otros agentes activos, de cualquier manera habitual, p. ej., por vía oral, por ejemplo, en forma de comprimidos o cápsulas, o por vía parenteral, por ejemplo, en forma de soluciones o suspensiones para inyección. Se hará referencia a una combinación que comprende un compuesto de la invención y otro agente activo como «combinación de la invención».

Un compuesto de la invención se puede combinar con un activador de lectura, p. ej., negamicina, RT13, RT14, atalureno o un activador de lectura aminoglicosídico, p. ej., paromomicina, amikacina, G418, NB30, NB54 o NB84.
Un compuesto de la invención se puede combinar con un inhibidor de la descomposición del ARNm mediada por mutaciones finalizadoras, p. ej., NMDI-1.

La negamicina, RT13, RT14, el atalureno, los activadores de lectura aminoglicosídicos y NMD-1 se describen, p. ej., en Keeling *et al.*, *WIREs RNA*, 2011, 2, 837-852.

Los compuestos de la invención pueden ser útiles para la prevención de enfermedades provocadas por mutaciones finalizadoras.
Los compuestos de la invención pueden ser útiles para el tratamiento de enfermedades provocadas por mutaciones finalizadoras.
Los compuestos de la invención pueden ser útiles para el retraso de la progresión de enfermedades provocadas por mutaciones finalizadoras.

En otra realización, la divulgación proporciona un método para tratar una enfermedad provocada por una mutación finalizadora que comprende la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable de este. En otra realización, la divulgación proporciona un método para tratar una enfermedad provocada por una mutación finalizadora que comprende la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde la enfermedad se selecciona a partir de la lista mencionada anteriormente, convenientemente hemofilia A, hemofilia B, fibrosis quística y mucopolisacaridosis (síndrome de Hurler).

La expresión «una cantidad terapéuticamente eficaz» de un compuesto de la invención se refiere a una cantidad del compuesto de la invención que provocará la respuesta biológica o médica de un sujeto, por ejemplo, mejorar los síntomas, aliviar las afecciones, ralentizar o retrasar la progresión de la enfermedad, o prevenir una enfermedad, etc. En una realización no limitante, la expresión «una cantidad terapéuticamente eficaz» se refiere a la cantidad del compuesto de la invención que, cuando se administra a un sujeto, es eficaz para aliviar, inhibir, prevenir y/o mejorar, al menos parcialmente, una enfermedad provocada por mutaciones finalizadoras. En otra realización no limitante, la expresión «una cantidad terapéuticamente eficaz» se refiere a la cantidad del compuesto de la invención que, cuando se administra a una célula, o a un tejido, o a un material biológico no celular, o a un medio, es eficaz para suprimir, al menos parcialmente, el efecto de las mutaciones finalizadoras.

El término «sujeto», tal como se utiliza en la presente, se refiere a un animal. Preferentemente, el animal es un mamífero. Un sujeto también se refiere, por ejemplo, a primates (p. ej., seres humanos), vacas, ovejas, cabras, caballos, perros, gatos, conejos, ratas, ratones, peces, aves y similares. En una realización preferida, el sujeto es un ser humano.

El término «inhibición» o «inhibir», tal como se utiliza en la presente, se refiere a la reducción o supresión de una afección, síntoma o trastorno o enfermedad dada, o a una disminución significativa en la actividad de base de una actividad o proceso biológico.

El término «tratar» o «tratamiento» de cualquier enfermedad o trastorno, tal como se utiliza en la presente, se refiere, en una realización, a mejorar la enfermedad o el trastorno (es decir, ralentizar o detener o reducir el desarrollo de la enfermedad o al menos uno de los síntomas clínicos de esta). En otra realización, «tratar» o «tratamiento» se refiere a aliviar o mejorar al menos un parámetro físico, incluidos aquellos que pueden no ser discernibles por el paciente. En otra realización más, «tratar» o «tratamiento» se refiere a modular la enfermedad o el trastorno, ya sea físicamente (p. ej., la estabilización de un síntoma discernible), fisiológicamente (p. ej., la estabilización de un parámetro físico) o ambos. En otra realización más, «tratar» o «tratamiento» se refiere a prevenir o retrasar el brote o el desarrollo o la progresión de la enfermedad o del trastorno.

La composición o combinación farmacéutica de la invención puede estar en dosis unitarias de aproximadamente 1-1000 mg de principio(s) activo(s) para un sujeto de aproximadamente 50-70 kg, o aproximadamente 1-500 mg o aproximadamente 1-250 mg o aproximadamente 1-150 mg o aproximadamente 0.5-100 mg, o aproximadamente 1-50 mg de principios activos. La dosificación terapéuticamente eficaz de un compuesto, la composición farmacéutica o las combinaciones de estos, depende de la especie del sujeto, del peso corporal, de la edad y del estado individual, del trastorno o enfermedad, o de la gravedad de este, que se esté tratando. Un facultativo, médico o veterinario con experiencia ordinaria puede determinar fácilmente la cantidad eficaz de cada uno de los principios activos necesaria para prevenir, tratar o inhibir el progreso del trastorno o la enfermedad.

Las propiedades de dosificación citadas anteriormente se pueden demostrar en pruebas *in vitro* e *in vivo* que utilizan convenientemente mamíferos, p. ej., ratones, ratas, perros, monos u órganos aislados, tejidos y preparados de estos. Los compuestos de la invención se pueden aplicar *in vitro* en forma de soluciones, p. ej., preferentemente soluciones acuosas, e *in vivo* ya sea por vía enteral, parenteral, convenientemente por vía intravenosa, p. ej., en forma de una suspensión o en solución acuosa. La dosificación *in vitro* puede oscilar entre concentraciones de aproximadamente 10^{-3} molar y 10^{-9} molar. Una cantidad terapéuticamente eficaz *in vivo* puede variar en función de la vía de administración, entre aproximadamente 0.1-500 mg/kg, o entre aproximadamente 1-100 mg/kg.

La actividad de un compuesto de la invención se puede evaluar mediante métodos *in vitro* e *in vivo* descritos en la presente.

El compuesto de la invención puede ser para administrarse ya sea simultáneamente o antes o después de al menos otro agente terapéutico. El compuesto de la invención se puede administrar por separado, mediante la misma vía de administración o una diferente, o conjuntamente en la misma composición farmacéutica.

Los siguientes Ejemplos ilustran la invención, pero no la limitan.

Ejemplos

Parte experimental:

Abreviaturas:

NMP	1-metilpirrolidin-2-ona
HOAt	3*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*b*]piridin-3-ol
HATU	hexafluorofosfato de 2-(3*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*b*]piridin-3-il)-1,1,3,3-tetrametilisouronio (V)
DMF	dimetilformamida
DCM	diclorometano
t.a.	temperatura ambiente
ACN	acetonitrilo
TFA	ácido trifluoroacético

Método de LC-MS:

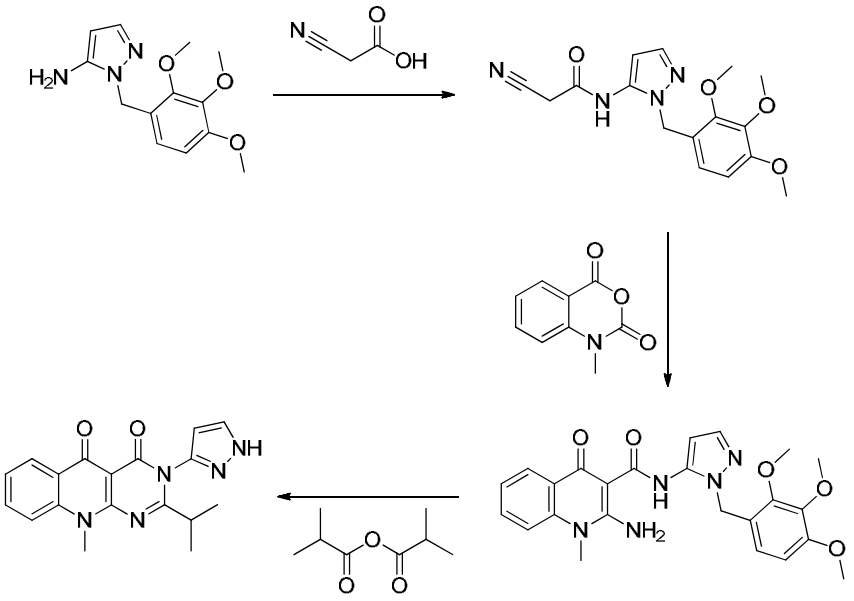
Sistema Acquity UPLC-SQD de Waters; fase móvil: A: agua (0.05% de ácido fórmico) B: metanol (0.04% de ácido fórmico); gradiente: de un 2% de B a un 8% de B en 0.1 min, de un 8% de B a un 98% de B en 0.5 min, un 98% de B durante 0.1 min; caudal 1 mL/min; columna Acquity UPLC BEH C18 de Waters, 30x2.1 mm, 1.7 mM; temperatura del horno 60 °C.

Dispositivo de RMN:

Avance 400 MHz Ultrashield y Avance 600 MHz de Bruker

Ejemplos:

Ejemplo 1.1: 2-isopropil-10-metil-3-(1*H*-pirazol-3-il)pirimido[4,5-*b*]quinolin-4,5(3*H*,10*H*)-diona



a) 2-ciano-*N*-(1-(2,3,4-trimetoxibencil)-1*H*-pirazol-5-il)acetamida

En atmósfera de argón, se suspendieron 272 mg de ácido 2-cianoacético (3.2 mmol) en 8.5 mL de NMP y se añadieron posteriormente 842 mg de 1-(2,3,4-trimetoxibencil)-1*H*-pirazol-5-amina (3.2 mmol), 435 mg de HOAt (3.2 mmol), 1.69 mL de 2,4,6-trimetilpiridina (12.8 mmol) y 3.04 g de HATU (8 mmol). La solución resultante se agitó a t.a. durante 2 h, se añadió a 8 mL de acetato de etilo y 5 mL de carbonato de sodio acuoso 1 M, se extrajo con acetato de etilo, se secó y se evaporó. El aceite resultante se purificó mediante cromatografía líquida en gel de sílice con acetato de etilo como eluyente. Las fracciones diana se combinaron, se evaporaron y el aceite resultante se trató con 4 mL de éter dietílico/acetato de etilo (3:1, v/v), se filtró, se lavó con éter dietílico y se secó para proporcionar 370 mg de 2-ciano-*N*-(1-(2,3,4-trimetoxibencil)-1*H*-pirazol-5-il)acetamida (1.1 mmol, 34%) como un polvo blanco.

ESI-MS $[M+H]^+$ 331,3

^{1}H-RMN (400 MHz, D_6-DMSO): δ(ppm) = 10.35 (s, 1H), 7.40 (d, 1H, J = 1.9 Hz), 6.73 (d, 1H, J = 8.6 Hz), 6.52 (d, 1H, J = 8.6 Hz), 6.27 (d, 1H, J = 1.9 Hz), 5.14 (s, 2H), 3.96 (s, 2H), 3.76 (s, 3H), 3.74 (s, 3H), 3.71 (s, 3H).

b) 2-amino-1-metil-4-oxo-*N*-(1-(2,3,4-trimetoxibencil)-1*H*-pirazol-5-il)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida

En atmósfera de argón, se añadieron 117 mg de NaH (2.9 mmol) a 6 mL de DMF y se enfrió hasta 0 °C. Se añadieron a esta suspensión 305 mg de 2-ciano-*N*-(1-(2,3,4-trimetoxibencil)-1*H*-pirazol-5-il)acetamida (9.2 mmol) en porciones con agitación para proporcionar una solución naranja. Después de 20 minutos, se añadieron 165 mg de 1-metil-1*H*-benzo[*d*][1,3]oxazin-2,4-diona (0.84 mmol) en porciones en un periodo de 10 minutos y se agitó a t.a. durante 1.5 horas. Se añadieron lentamente a esta solución 1.7 mL de HCl acuoso 2 N (3.4 mmol) con refrigeración hasta alcanzar un pH de 0-1 y se agitó a t.a. durante 30 minutos, a continuación se calentó hasta 35 °C durante 2.5 horas. La suspensión amarilla resultante se vertió cuidadosamente sobre 10 mL de una solución acuosa de hidrogenocarbonato de potasio (al 15%, s/v) y se agitó durante 15 minutos. El sólido se filtró, se lavó dos veces con agua, dos veces con 1.5 mL de éter dietílico/heptano (1:1, v/v) y se secó para proporcionar 210 mg de 2-amino-1-metil-4-oxo-*N*-(1-(2,3,4-trimetoxibencil)-1*H*-pirazol-5-il)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida (0.44 mmol, 53%) como un polvo blanquecino.

ESI-MS $[M+H]^+$ 464.4

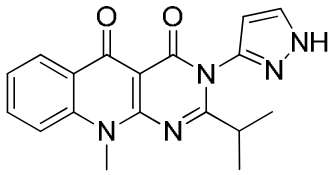
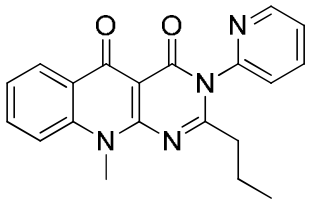
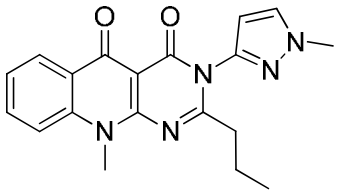
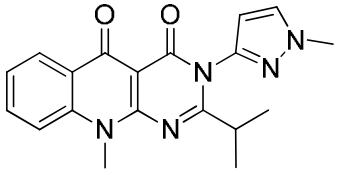
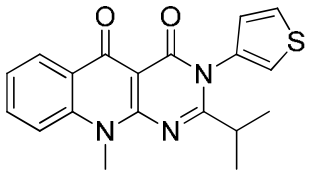
^{1}H-RMN (400 MHz, D_6-DMSO): δ(ppm) = 14.67 (s, 1H), 8.19 (dd, 1H, J = 1.4 Hz), 7.77-7.65 (m, 2H), 7.43-7.31 (m, 2H), 6.71 (d, 1H, J = 8.7 Hz), 6.52 (d, 1H, J = 1.9 Hz), 6.45 (d, 1H, J = 8.6 Hz), 5.26 (s, 2H), 3.84 (s, 3H), 3.75 (s, 3H), 3.74 (s, 3H), 3.67 (s, 3H).

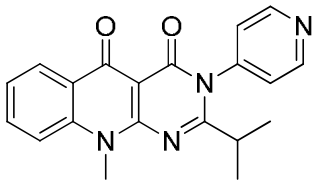
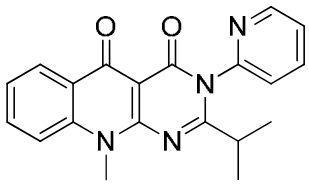
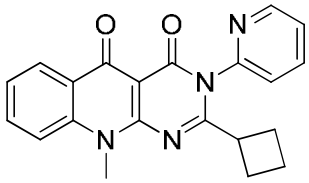
c) 2-isopropil-10-metil-3-(1*H*-pirazol-3-il)pirimido[4,5-*b*]quinolin-4,5(3*H*,10*H*)-diona

En atmósfera de argón, se añadieron 50 mg de 2-amino-1-metil-4-oxo-*N*-(1-(2,3,4-trimetoxibencil)-1*H*-pirazol-5-il)-1,4-dihidroquinolin-3-carboxamida (0.11 mmol) a 0.4 mL de ácido isobutírico (4.3 mmol), a continuación se añadieron 0.07 mL de anhídrido del ácido isobutírico (0.42 mmol) y 0.03 mL de una solución del anhídrido del ácido propanofosfónico (al 50% en DMF, 0.05 mmol). La mezcla se calentó hasta 155 °C y se agitó durante 1 h. La solución se enfrió hasta 70 °C, se añadieron 0.5 mL de MeOH y se agitó durante 20 minutos. La mezcla se diluyó con 10 mL de DCM y se añadió a 6 mL de carbonato de sodio acuoso 2 M, la fase orgánica se extrajo tres veces con agua, las fases acuosas se extrajeron dos

veces con 10 mL de DCM, las fases orgánicas compuestas se secaron con sulfato de sodio, se filtraron y se evaporaron. El residuo se disolvió en 1 mL de etanol, se añadieron 0.03 mL de ácido clorhídrico acuoso (1.1 mmol) y se calentó hasta 110 °C durante 1.5 horas. La mezcla se filtró y se purificó mediante RP-HPLC (C18, agua/ACN con un 0.1% de TFA), las fracciones diana se concentraron a presión reducida y se liofilizaron para proporcionar 5 mg de 2-isopropil-10-metil-3-(1*H*-pirazol-3-il)pirimido[4,5-*b*]quinolin-4,5(3*H*,10*H*)-diona (0.014 mmol, 14%) como un sólido incoloro.
ESI-MS $[M+H]^+$ 336.1
^{1}H-RMN (600 MHz, D_6-DMSO): δ(ppm) = 13.22 (s, 1H), 8.21 (d, 1H, J = 8.0 Hz), 7.95 (d, 1H, J = 1.9 Hz), 7.86-7.76 (m, 2H), 7.43 (t, 1H, J = 7.1 Hz), 6.44 (d, 1H, J = 2.1 Hz), 4.05 (s, 3H), 2.68-2.56 (m, 1H), 1.21 (d, 6H, J = 6.6 Hz).

Los ejemplos 1.2-1.8 se prepararon de forma análoga al ejemplo 1.1 descrito anteriormente.

Ej	Estructura	Nombre	LCMS t_R [min], mét. A	$[M+H]^+$
1.1		2-isopropil-10-metil-3-(1*H*-pirazol-3-il)pirimido[4,5-*b*]quinolin-4,5(3*H*,10*H*)-diona	0.59	336.1
1.2		10-metil-2-propil-3-(piridin-2-il)pirimido[4,5-*b*]quinolin-4,5(3*H*,10*H*)-diona	0.60	347.0
1.3		10-metil-3-(1-metil-1*H*-pirazol-3-il)-2-propilpirimido[4,5-*b*]quinolin-4,5(3*H*,10*H*)-diona	0.60	350.0
1.4		2-isopropil-10-metil-3-(1-metil-1*H*-pirazol-3-il)pirimido[4,5-*b*]quinolin-4,5(3*H*,10*H*)-diona	0.60	350.0
1.5		2-isopropil-10-metil-3-(tiofen-3-il)pirimido[4,5-*b*]quinolin-4,5(3*H*,10*H*)-diona	0.63	352.0

Ej	Estructura	Nombre	LCMS t_R [min], mét. A	$[M+H]^+$
1.6		2-isopropil-10-metil-3-(piridin-4-il)pirimido[4,5-*b*]quinolin-4,5(3*H*,10*H*)-diona	0.58	347.1
1.7		2-isopropil-10-metil-3-(piridin-2-il)pirimido[4,5-*b*]quinolin-4,5(3*H*,10*H*)-diona	0.59	347.1
1.8		2-ciclobutil-10-metil-3-(piridin-2-il)pirimido[4,5-*b*]quinolin-4,5(3*H*,10*H*)-diona	0.61	359.1

Ensayo Biológico

Ensayo *in vitro*: ensayo CFTR-Y122X

La actividad de los compuestos de la presente invención se examinó en líneas celulares Hek293 isogénicas recombinantes con marcador doble («ensayo CFTR-Y122X»). Los constructos del marcador modificados genéticamente contenían el tramo de secuencia de 18 pb correspondiente a una mutación Y122X PTC común en pacientes con mutación de clase I en CFTR (remítase a Sermet-Gaudelus, *BMC Medicine*, 2007, 5 (5)). En lugar de una tirosina (Y) en la posición 122 de la proteína CFTR, un codón de parada TGA interrumpe el marco de lectura abierto (Y122X) del ARNm correspondiente. Este triplete del codón de parada TGA (seguido de la base pirimidínica citosina) permite una lectura de la traducción mediada por aminoglicósidos que sirvió como control positivo para el cribado de alto rendimiento. Se utilizó una variante del codón de parada TAA correspondiente y un constructo no mutado de origen natural para la confirmación y el contracribado. La secuencia de CFTR se intercaló (a modo de sándwich) entre un marcador eGFP y una secuencia de marca myc triple fusionada con un marcador de Renilla de longitud completa. Todas las secuencias, incluido un intrón que contenía un pre-eGFP posicionado (intrón de b-globina), se clonaron en el marco. Los constructos de expresión correspondientes se expresaron de forma estable en el hospedador celular HEK-R4 isogénico (Invitrogen Incorp.) y se seleccionaron según su resistencia a la blasticidina. La integración isogénica del constructo minimiza los efectos de la dosis de genes y mejora la reproducibilidad del ensayo. Se seleccionaron los clones derivados de células individuales integrados de forma estable y se caracterizaron para la lectura mediada por aminoglicósidos. Se buscaba un clon con características de crecimiento óptimas y respuesta potente (CE_{50} de 1.5 mM) a la paromomicina para el desarrollo del ensayo HTS. La lectura de Y122X acumula una proteína de fusión localizada intracelular de aproximadamente 65.5 kDa de tamaño según se controla por el análisis de inmunotransferencia de Western e inmunofluorescencia utilizando un anticuerpo anti-renilla. La mutación pre-PTC del marcador eGFP sirve como control visual para la estabilidad genética de los clones del cribado y minimiza la degradación proteica de pequeñas cantidades de proteínas de fusión. En el ensayo, la concentración del compuesto fue de 10 µM. En un formato de 1536 pocillos miniaturizado, se dispensaron 2000 células en 4 µL/pocillo y se incubaron durante 24 h a 37 °C, con un 5% de CO_2. Se colocaron 40 nL de compuestos en las células con pocillos de control que contenían 1 uL de paramomicina y una concentración final de 14.4 mM. Los compuestos se incubaron durante 24 h. Se añadió sustrato de Renilla Glo (2.5 uL) y las placas se centrifugaron y se procesaron para medir la luminiscencia utilizando diversos lectores. El cálculo de la actividad se realizó utilizando la ecuación: A1 (%) = 100*(S-NC)/ (AC-NC), donde AC, NC y S corresponden a controles activos (inyección de tampón de estimulación = 100% de estimulación), controles neutros (inyección de tampón con lloprost EC10) y muestras de cribado (S). NC corresponde a un 0% de actividad, mientras que AC es un 100% de actividad (paromomicina 14 mM). Se eliminaron los artefactos positivos falsos en el cribado de confirmación y validación utilizando el mismo formato de ensayo seguido del contracribado

utilizando el modelo celular de constructo de origen natural respectivo (sin mutación PTC). Los compuestos se evaluaron hasta una concentración de compuesto de 100 µM.
Tabla 2: Actividad *in vitro* en el ensayo CFTR-Y122X:

La Tabla 2 representa los valores de AC_{50} para la supresión de mutaciones finalizadoras en el ensayo CFTR-Y122X.

Ej	$A_{máx}$ [%]	AC_{50} [µM]
1.1	14.8	6.7
1.2	235	18
1.3	202	31.8
1.4	132.9	13.6
1.5	127.8	12.3
1.6	14.9	2.9
1.7	163.7	11.7
1.8	271	4.8

El siguiente compuesto de fórmula (I) se evaluó en el ensayo CFTR-Y122X descrito anteriormente en los intervalos de dosis anteriores; se observó una supresión que alcanzó únicamente menos de un 5% de la actividad de referencia de la paromomicina:
2-isopropil-10-metil-3-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)pirimido[4,5-*b*]quinolin-4,5(3*H*,10*H*)-diona.

La Tabla 2 anterior muestra que los compuestos de la invención presentan actividad en un ensayo funcional, lo cual indica que fomentan la lectura de la traducción.

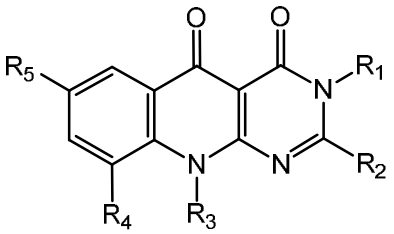
Ensayo *in vitro*: cultivos de células de fibroblastos obtenidas a partir de pacientes con síndrome de Hurler

La actividad de los compuestos de la presente invención se examinó en células de fibroblastos obtenidas a partir de pacientes. Las células genotipadas se obtuvieron del Coriell Institute (# GM00798) y contenían un cambio de TGG a TAG homocigótico en el marco, en el nucleótido 1293 del exón 9, que da como resultado una mutación W402X. La mutación W402X es una de las mutaciones de pérdida de función más habituales que provocan los síndromes de Hurler. Entre un 60-70% de los pacientes genotipados contienen la mutación Q70X y/o W402X y se clasifican como pacientes de MPSI graves. Este triplete del codón de parada TAG permite la lectura de la traducción mediada por aminoglicósidos, lo cual sirvió como control de la actividad para la evaluación de los compuestos. La lectura de W402X restablece la actividad de la alfa-L-Iduronidasa, lo cual da como resultado la eliminación de los glicosaminoglicanos lisosómicos acumulados. La expresión de la Iduronidasa no se pudo detectar mediante Taqman PCR© ni mediante actividad enzimática o métodos de ELISA sin la estimulación de los compuestos. Los compuestos se evaluaron en un modo de respuesta a la concentración. Por consiguiente, se utilizaron 5000 células de pacientes/40 uL/pocillo en placas de 384 pocillos. Las diluciones de los compuestos se obtuvieron a partir de soluciones patrón de los compuestos 10 mM recién preparadas. La concentración más elevada fue de 20 uM y posteriormente se diluyó con un factor de 1:3.16 (8 diluciones puntuales, n=4). La concentración final de DMSO fue inferior a un 0.5% y se comprobó que no ejercía ningún efecto sobre la viabilidad, el crecimiento y la lectura de las células. Las células se incubaron durante 8 días con un medio celular e intercambio del compuesto en el día 3. Posteriormente, se retiró el medio celular y las células se sometieron a lisis (formiato de sodio 0.4 M, 0.1% de NaN_3, 0.9% de NaCl, 0.2% de Triton, pH 3.5). La actividad de la alfa-L-iduronidasa restablecida en los lisados celulares se midió con el sustrato fluorescente 4-MU-iduronida (5 uL de 4-metilumbeliferil-alfa-L-iduronida 0.4 mM/pocillo) después de 48 h de incubación. Se utilizó paromomicina como control de referencia (14 mM=100% de control). Los resultados se muestran en la Tabla 3 a continuación y sugieren que los compuestos se podrían utilizar en el tratamiento del síndrome de Hurler.
Tabla 3

Ej	$A_{máx}$ [%]	AC_{50} [µM]
1.1	7	-
1.2	1	-
1.3	8	-
1.4	21	-
1.5	5	-
1.6	5	-
1.7	11	-
1.8	184	9.9

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I) en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable



(I)
donde
R_1 es un anillo seleccionado entre pirazolilo, tiofenilo o piridin-2-ilo, donde el anillo puede estar sustituido con alquilo C_1-$_3$;
R_2 es alquilo C_2-C_3
o R_2 es ciclobutilo;
R_3 es hidrógeno o metilo;
R_4 es hidrógeno y R_5 es hidrógeno.

2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable, donde R_1 es tiofenilo.

3. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable, donde R_1 es piridin-2-ilo.

4. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable, donde R_1 es pirazolilo.

5. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable, que se selecciona entre
2-isopropil-10-metil-3-(1*H*-pirazol-3-il)pirimido[4,5-*b*]quinolin-4,5(3*H*,10*H*)-diona;
10-metil-2-propil-3-(piridin-2-il)pirimido[4,5-*b*]quinolin-4,5(3*H*,10*H*)-diona;
10-metil-3-(1-metil-1*H*-pirazol-3-il)-2-propilpirimido[4,5-*b*]quinolin-4,5(3*H*,10*H*)-diona;
2-isopropil-10-metil-3-(1-metil-1*H*-pirazol-3-il)pirimido[4,5-*b*]quinolin-4,5(3*H*,10*H*)-diona;
2-isopropil-10-metil-3-(tiofen-3-il)pirimido[4,5-*b*]quinolin-4,5(3*H*,10*H*)-diona;
2-isopropil-10-metil-3-(piridin-4-il)pirimido[4,5-*b*]quinolin-4,5(3*H*,10*H*)-diona;
2-isopropil-10-metil-3-(piridin-2-il)pirimido[4,5-*b*]quinolin-4,5(3*H*,10*H*)-diona; y
2-ciclobutil-10-metil-3-(piridin-2-il)pirimido[4,5-*b*]quinolin-4,5(3*H*,10*H*)-diona.

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

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

8. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable para su uso como medicamento.

9. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable para su uso en el tratamiento de una enfermedad provocada por una mutación finalizadora.

10. Un compuesto para su uso de acuerdo con la reivindicación 9, donde la enfermedad se selecciona entre hemofilia A, hemofilia B, fibrosis quística, mucopolisacaridosis I, distrofia muscular de Duchenne, distrofia muscular de Becker, cáncer provocado por pérdida de APC y cáncer provocado por pérdida de p53.