

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 751 642**

51 Int. Cl.:

**C07D 487/04** (2006.01)

**C07D 495/14** (2006.01)

**A61K 31/5517** (2006.01)

**A61K 31/4196** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **08.04.2015 PCT/KR2015/003530**

87 Fecha y número de publicación internacional: **15.10.2015 WO15156601**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.04.2015 E 15776821 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.06.2019 EP 3129378**

54 Título: **Compuestos inhibidores de bromodominios y composición farmacéutica que los comprende para prevenir o tratar un cáncer**

30 Prioridad:

**09.04.2014 US 201461977370 P**

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

**01.04.2020**

73 Titular/es:

**KAINOS MEDICINE, INC. (100.0%)  
4F, Institut Pasteur Korea, 16, Daewangpangyo-ro  
712beon-gil, Bundang-gu, Seongnam-si,  
Gyeonggi-do, 13488, KR**

72 Inventor/es:

**OH, SU-SUNG y  
CHOI, MINJEONG**

74 Agente/Representante:

**LINAGE GONZÁLEZ, Rafael**

ES 2 751 642 T3

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

## DESCRIPCIÓN

Compuestos inhibidores de bromodominios y composición farmacéutica que los comprende para prevenir o tratar un cáncer

5

**Campo de la invención**

La presente invención se refiere a un compuesto que inhibe las proteínas del bromodominio y del dominio extraterminal (BET); a un método de preparación del mismo; a una composición farmacéutica que lo comprende; y al compuesto para su uso en un método para prevenir o tratar una transformación precancerosa o cáncer.

10

**Antecedentes de la invención**

La expresión génica se regula mediante una variedad de diferentes mecanismos a varios niveles diferentes. Los mecanismos epigenéticos regulan la expresión génica modificando el ADN sin cambiar secuencias de nucleótidos o modificando histonas que envuelven las moléculas de ADN y restringen el acceso de proteínas de unión a ADN tales como factores de transcripción. Las modificaciones de histona incluyen acetilación, metilación, fosforilación, ubiquitinilación, y otras pocas. Estas modificaciones se denominan "de escritura" y las enzimas responsables de la "escritura" se denominan "escritores". Y estas modificaciones de histona son reversibles, y las enzimas que llevan a cabo los mecanismos inversos, tales como histona desacetilasas e histona desmetilasas, se denominan "borradores".

15

20

Estas modificaciones epigenéticas se reconocen normalmente por los así denominados "lectores", dando lugar a la activación o al silenciamiento de la expresión génica dependiendo del contexto específico de cromatina de cada combinación de escritura-lectura. Las proteínas que contienen bromodominio (BRD) se unen a las histonas acetiladas a través del BRD, que tienen una longitud de aproximadamente 110 aminoácidos (P. Filippakopoulos, *et al.*, *Cell*, 2012, 149:214-231). Este bromodominio altamente conservado, compuesto por cuatro hélices alfa antiparalelas y dos bucles de conexión, se encuentra en unas varias clases diferentes de proteínas que incluyen histona acetilasas, factores y correguladores de la transcripción eucariotas, ADN helicasas, complejos de remodelación de cromatina y otros.

25

30

Las proteínas del bromodominio y del dominio extraterminal (BET) son una subfamilia de proteínas que contienen bromodominio que tienen dos bromodominios y un dominio extraterminal (ET). La subfamilia está compuesta por 4 miembros que incluyen BRD2, BRD3, BRD4 y BRDT (BRD5). Las proteínas BET desempeñan un papel importante en varios programas transcripcionales, y están implicadas en eventos transcripcionales aberrantes que son responsables de varios tipos de enfermedades humanas que incluyen inflamación y cáncer (A. C. Belkina, *et al.*, *Nature Reviews Cancer*, 2012, 12 (7):465-477; y R. K. Prinjha, *et al.*, *Trends in Pharmacological Sciences*, 2012, 33:146-153). La expresión desregulada de BRD2, BRD3 y BRD4 es oncogénica en seres humanos. Las translocaciones cromosómicas recíprocas entre genes BRD3 (9q34.2) o BRD4 (19p13.1) humanos y el gen NUT (15q14) producen una oncoproteína fusionada que provoca un carcinoma de línea media NUT (NMC) y un cáncer agresivo con alta mortalidad (C. A. French, *et al.*, *Cancer Research*, 2003, 63(2):304-307; y C. A. French, *et al.*, *Oncogene*, 2008, 27:2237-2242). BRD4 se regula por incremento a menudo en melanoma (M. F. Segura, *et al.*, *Cancer Research*, 2013, 73(20):6264-6276).

35

40

Se han desarrollado numerosos inhibidores de moléculas pequeñas de proteínas BET que evitan la unión de BRD a histonas acetiladas (S. Muller *et al.*, *MedChemComm*, 2014, 5:288-296). La mayoría de estos compuestos son miméticos de lisina acetilada, y muestran una actividad antitumoral fuerte contra cánceres hematológicos y cánceres sólidos tales como leucemia de linaje mixto (LLM)-leucemia de fusión (Dawson MA *et al.*, *Nature*, 2011, 478:529-533), mieloma múltiple (J. E. Delmore *et al.*, *Cell*, 2011, 146:904-917 y Aristeidis Chaidos *et al.*, *Blood* 2014, 123:697-705), glioblastoma (Zhixiang C. *et al.*, *Clinical cancer research*, 2013, 19:1748-1759), neuroblastoma (J. A. Mertz *et al.*, *Cancer Discovery* 2013, 3:308-323), cáncer de próstata (A. Wyce *et al.*, *Oncotarget* 2013, 4:2419-2429), cáncer de pulmón (Shimamura T. *et al.*, *Clinical cancer research*, 2013, 19:6183-6192), melanoma (M. F. Segura, *et al.*, *Cancer Research* 2013, 73(20):6264-6276), y enfermedades autoinmunitarias. Notablemente, los inhibidores de BRD inhiben la expresión del oncogén *c-myc*, que tuvo un efecto crítico sobre la proliferación celular en muchos tipos diferentes de cánceres. Por tanto, los inhibidores de BRD o inhibidores de proteínas BET representan potencialmente una nueva clase de agentes terapéuticos para prevenir o tratar una transformación precancerosa o un cáncer.

45

50

55

El documento US5593988 da a conocer un método para tratar osteoporosis que comprende administrar un compuesto de azequina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

60

El documento US 2010/0286127 A1 da a conocer un agente antitumoral que contiene un compuesto que inhibe la unión entre histona acetilada y una proteína que contiene bromodominio, preferiblemente un compuesto de tienotriazolodiazepina.

65

El documento WO 2011/054844 A1 da a conocer compuestos de benzodiazepina y sales de los mismos,

composiciones farmacéuticas que contienen tales compuestos y su uso en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades o estados para los que se indica un inhibidor de bromodominio.

- 5 El documento WO 2011/143669 A2 da a conocer composiciones y métodos para tratar o prevenir una neoplasia. La invención proporciona composiciones y métodos para interrumpir la interacción de un polipéptido de la familia BET que comprende un bromodominio con cromatina.

**Sumario de la invención**

- 10 Por consiguiente, un objeto de la presente invención es proporcionar compuestos novedosos que inhiban de manera selectiva proteínas que contienen bromodominio tales como BRD2, BRD3 y BRD4.

Las realizaciones de la presente invención se reflejan en las reivindicaciones 1, 2 y 6.

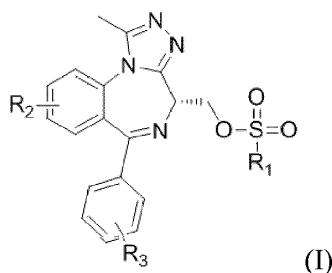
- 15 Las realizaciones preferidas se reflejan en las reivindicaciones dependientes 3 a 5 y 7 a 11.

Otro objeto de la presente invención es proporcionar una composición farmacéutica que comprenda dicho compuesto como principio activo.

- 20 Un objeto adicional de la presente invención es proporcionar compuestos para su uso en un método para prevenir o tratar una transformación precancerosa o un cáncer

Según un aspecto de la presente invención, se proporciona un compuesto de fórmula (I), o una sal, un hidrato, un solvato o un estereoisómero farmacéuticamente aceptable del mismo:

25

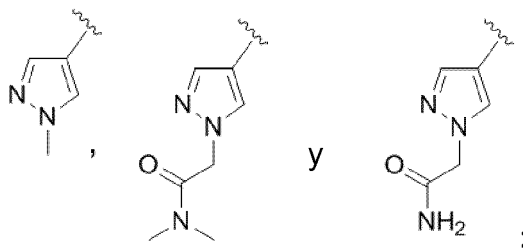


en la que,

- 30 R<sub>1</sub> se selecciona del grupo que consiste en alquilo C<sub>1-10</sub>, cicloalquilo C<sub>3-10</sub>, cicloalquil C<sub>3-10</sub>-alquilo C<sub>1-10</sub>, alquil C<sub>1-10</sub>-cicloalquilo C<sub>3-10</sub>, haloalquilo C<sub>1-10</sub>, alquenilo C<sub>2-10</sub> y NRbRb',

- 35 en la que, R<sub>b</sub> y R<sub>b'</sub> se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C<sub>1-10</sub>, alquil C<sub>1-10</sub>-arilo, cicloalquilo C<sub>3-10</sub>, cicloalquil C<sub>3-10</sub>-alquilo C<sub>1-10</sub>, alquil C<sub>1-10</sub>-cicloalquilo, formilo, heterociclilo, heterociclilalquilo, haloalquilo C<sub>1-10</sub>, heteroarilo, aralquilo, heteroarilalquilo C<sub>1-10</sub>, heteroarilarilo, biciclilo condensado, biarilo, ariloxiarilo, heteroariloxiarilo, ariloxiheteroarilo, heteroariloxiheteroarilo, alquenilo C<sub>2-10</sub>, alquinilo C<sub>2-10</sub>, azido, nitro y ciano;

- 40 R<sub>2</sub> se selecciona del grupo que consiste en halo, haloalquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxilo C<sub>1-6</sub>, haloalcoxilo C<sub>1-6</sub>, ciano, CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -CONHR<sub>d</sub>, y grupos heteroaromáticos seleccionados del grupo que consiste en:

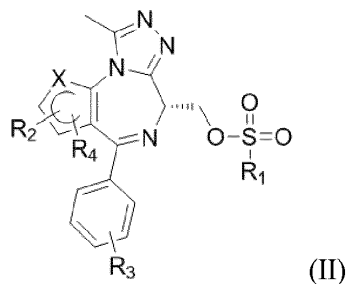


- 45 R<sub>3</sub> se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, hidroxilo, halo, alquilo C<sub>1-6</sub>, haloalquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxilo C<sub>1-6</sub>, haloalcoxilo C<sub>1-6</sub>, nitro, ciano, CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -COOR<sub>d</sub> y -CONHR<sub>d</sub>; y

R<sub>d</sub> es alquilo C<sub>1-3</sub> o hidroxilalquilo C<sub>1-3</sub>.

Además, se proporciona un compuesto de fórmula (II), o una sal, un hidrato, un solvato o un estereoisómero

farmacéuticamente aceptable del mismo:



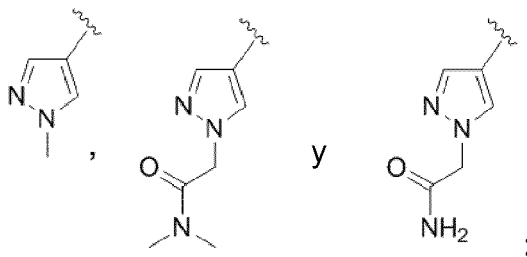
5 en la que,

X es C o S;

10 R<sub>1</sub> se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C<sub>1-10</sub>, alquil C<sub>1-10</sub>-arilo, cicloalquilo C<sub>3-10</sub>, cicloalquil C<sub>3-10</sub>-alquilo C<sub>1-10</sub>, alquil C<sub>1-10</sub>-cicloalquilo C<sub>3-10</sub>, formilo, heterociclilo, heterociclilalquilo C<sub>1-10</sub>, haloalquilo C<sub>1-10</sub>, heteroarilo, aralquilo, heteroarilalquilo C<sub>1-10</sub>, heteroarilarilo, biciclilo condensado, biarilo, ariloxiarilo, heteroariloxiarilo, ariloxiheteroarilo, heteroariloxiheteroarilo, alquenilo C<sub>2-10</sub>, alquinilo C<sub>2-10</sub>, azido, nitro, ciano, OR<sub>a</sub>, NR<sub>b</sub>R<sub>b</sub>' y COR<sub>c</sub>,

15 en la que, R<sub>a</sub>, R<sub>b</sub>, R<sub>b</sub>' y R<sub>c</sub> se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C<sub>1-10</sub>, alquil C<sub>1-10</sub>-arilo, cicloalquilo C<sub>3-10</sub>, cicloalquil C<sub>3-10</sub>-alquilo C<sub>1-10</sub>, alquil C<sub>1-10</sub>-cicloalquilo, formilo, heterociclilo, heterociclilalquilo, haloalquilo C<sub>1-10</sub>, heteroarilo, aralquilo, heteroarilalquilo C<sub>1-10</sub>, heteroarilarilo, biciclilo condensado, biarilo, ariloxiarilo, heteroariloxiarilo, ariloxiheteroarilo, heteroariloxiheteroarilo, alquenilo C<sub>2-10</sub>, alquinilo C<sub>2-10</sub>, azido, nitro y ciano;

20 R<sub>2</sub> y R<sub>4</sub> se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, hidroxilo, halo, alquilo C<sub>1-6</sub>, haloalquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxilo C<sub>1-6</sub>, haloalcoxilo C<sub>1-6</sub>, nitro, ciano, CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -COOR<sub>d</sub>, -CONHR<sub>d</sub> y grupos heteroaromáticos seleccionados del grupo que consiste en:



25 R<sub>3</sub> se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, hidroxilo, halo, alquilo C<sub>1-6</sub>, haloalquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxilo C<sub>1-6</sub>, haloalcoxilo C<sub>1-6</sub>, nitro, ciano, CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -COOR<sub>d</sub> y -CONHR<sub>d</sub>; y

30 R<sub>d</sub> es alquilo C<sub>1-3</sub> o hidroxilalquilo C<sub>1-3</sub>.

35 Según otro aspecto de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica para prevenir o tratar una transformación precancerosa o un cáncer, que comprende el compuesto de fórmula (I) o (II), o una sal, un hidrato, un solvato o un estereoisómero farmacéuticamente aceptable del mismo como principio activo, y un portador farmacéuticamente aceptable.

40 Según un aspecto adicional de la presente invención, se proporciona un compuesto para su uso en un método para prevenir o tratar una transformación precancerosa o un cáncer en un mamífero, que comprende administrar el compuesto de fórmula (I) o (II), o una sal, un hidrato, un solvato o un estereoisómero farmacéuticamente aceptable del mismo al mamífero que lo necesita.

Según todavía un aspecto adicional de la presente invención, se proporciona un uso del compuesto de fórmula (I) o (II), o una sal, un hidrato, un solvato o un estereoisómero farmacéuticamente aceptable del mismo para la fabricación de un medicamento para prevenir o tratar una transformación precancerosa o un cáncer.

45 Los compuestos de la presente invención pueden ser más potentes, más estables metabólicamente y más eficaces en el tratamiento de cáncer que otros inhibidores de bromodominio que no tienen los derivados sulfonato y derivados sulfamato. Además, los compuestos de la presente invención pueden mostrar excelentes propiedades farmacológicas y farmacocinéticas *in vivo*.

**Breve descripción de los dibujos**

5 Los anteriores y otros objetos y características de la presente invención serán evidentes a partir de la siguiente descripción de la invención, cuando se toman en conjunto con los dibujos adjuntos, que muestran respectivamente:

Figura 1: farmacocinética del compuesto 1 en ratón a través de la vía de administración oral;

10 Figura 2: farmacocinética del compuesto 1 en rata a través de la vía de administración oral;

Figura 3: farmacocinética del compuesto 1 en perro a través de la vía de administración oral; y

15 Figura 4: actividades de inhibición del crecimiento tumoral (TGI) del compuesto 1 en xenoinjerto humano de leucemia MV4-11.

**Descripción detallada de la invención**

20 Si bien se cree que los términos usados en la descripción de la invención los entienden bien un experto habitual en la técnica, las definiciones, cuando se proporcionan en el presente documento, se exponen para facilitar la descripción de la invención y para proporcionar ejemplos ilustrativos para el uso de los términos.

25 El término "alquilo" se usa en el presente documento para referirse a un hidrocarburo que contiene átomos de carbono normales, secundarios, terciarios o cíclicos (por ejemplo, grupos de hidrocarburos alifáticos saturados lineales, grupos de hidrocarburos alifáticos saturados ramificados o un sistema mono o multianillo de hidrocarburos no aromáticos saturados o insaturados (por ejemplo, cicloalquilo)). Cuando el término "alquilo" se usa sin referencia a un número de átomos de carbono, debe entenderse que se refiere a un alquilo C<sub>1-10</sub>.

30 El término "arilo" se usa en el presente documento para referirse a grupos de hidrocarburos cíclicos, aromáticos que tienen de 1 a 3 anillos aromáticos. El grupo arilo puede condensarse a un segundo o tercer anillo que es un anillo de heterociclo, cicloalquilo o heteroarilo, siempre que en ese caso el punto de unión sea la porción de arilo del sistema de anillo. Los ejemplos de grupos "arilo" incluyen, pero no se limitan a, fenilo, naftilo, tetrahidronaftilo, bifenilo, indanilo, antracilo o fenantrilo, así como derivados sustituidos de los mismos.

35 El término "heteroarilo" se usa en el presente documento para referirse a un grupo arilo en el que al menos uno de los átomos de carbono en el anillo aromático se haya reemplazado por un heteroátomo seleccionado de oxígeno, nitrógeno y azufre. Los heteroátomos de nitrógeno y/o azufre pueden oxidarse opcionalmente y los heteroátomos de nitrógeno pueden cuaternizarse opcionalmente. El grupo heteroarilo puede ser un sistema de anillo monocíclico de 5 a 6 miembros, bicíclico de 7 a 11 miembros o tricíclico de 10 a 16 miembros.

40 El término "alqueno" se usa en el presente documento para referirse a un hidrocarburo de cadena lineal o ramificada que contiene desde 2 hasta 10 átomos de carbono y que contiene al menos un doble enlace carbono-carbono formado por la eliminación de dos hidrógenos.

45 El término "alquino" se usa en el presente documento para referirse a un hidrocarburo de cadena lineal o ramificada que contiene desde 2 hasta 10 átomos de carbono y que contiene al menos un triple enlace carbono-carbono.

El término "alcoxilo" se usa en el presente documento para referirse a un grupo alquilo, tal como se define en el presente documento, unido al resto molecular original a través de un átomo de oxígeno.

50 El término "aralquilo" se usa en el presente documento para referirse a un grupo arilalquilo en el que el arilo y el alquilo son tal como se definen en el presente documento. Los aralquilos preferidos comprenden un grupo alquilo inferior.

55 El término "ariloxilo" se usa en el presente documento para referirse a un grupo arilo, tal como se define en el presente documento, unido al resto molecular original a través de un átomo de oxígeno.

60 El término "carbociclilo" (solo o en combinación con otro(s) término(s)) se usa en el presente documento para referirse a un sustituyente hidrocarbilo cíclico saturado (es decir, "cicloalquilo"), cíclico parcialmente saturado (es decir, "cicloalqueno") o completamente insaturado (es decir, "arilo") que contiene desde 3 hasta 14 átomos de anillo de carbono (siendo "átomos de anillo" los átomos unidos juntos para formar el anillo o los anillos de un sustituyente cíclico). Un carbociclilo puede ser un anillo individual, que contiene normalmente desde 3 hasta 6 átomos de anillo.

65 El término "cicloalquilo" se usa en el presente documento para referirse a hidrocarburos monocíclicos o multicíclicos (por ejemplo, bicíclicos, tricíclicos, etc.) que contienen desde 3 hasta 12 átomos de carbono que están completamente saturados o tienen uno o más enlaces insaturados pero no equivalen a un grupo aromático.

El término "ciano" se usa en el presente documento para referirse a un grupo -CN.

El término "halo" o "halógeno" se usa en el presente documento para referirse a -Cl, -Br, -I o -F.

- 5 El término "haloalquilo" se usa en el presente documento para referirse a un alquilo, tal como se define en el presente documento, en el que al menos un átomo de hidrógeno se reemplaza con átomos de halógeno.

- 10 El término "heterociclilo" se usa en el presente documento para incluir un sistema de anillo saturado (por ejemplo, "heterocicloalquilo"), parcialmente insaturado (por ejemplo, "heterocicloalqueno" o "heterocicloalquino") o completamente insaturado (por ejemplo, "heteroarilo"), que tiene de 3 a 12 átomos que incluyen al menos un heteroátomo, tal como nitrógeno, oxígeno o azufre.

- 15 Los términos "primero" y "segundo" se usan en el presente documento con el fin de distinguir entre dos compuestos, o entre dos composiciones, tal como será más evidente a partir de la descripción.

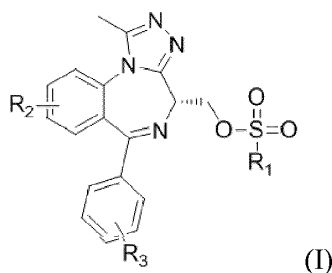
- 20 La frase "cantidad médicamente eficaz" significa una cantidad de una composición o un compuesto que trata la enfermedad, el estado o el trastorno particular; mejora, alivia o disminuye uno o más síntomas asociados con la enfermedad, el estado o el trastorno particular; y/o retrasa o previene la aparición de síntomas de, o un proceso patológico asociado con la enfermedad, el estado o el trastorno particular descrito en el presente documento en más detalle.

- 25 El término "portador farmacéuticamente aceptable" se usa en el presente documento para significar cualquier compuesto o composición o medio portador útil en uno cualquiera o más de administración, suministro, almacenamiento, estabilidad de una composición o un compuesto descrito en el presente documento.

- 30 Los portadores farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, un diluyente, agua, solución salina, un vehículo adecuado (por ejemplo, liposoma, micropartícula, nanopartícula, emulsión y cápsula), un tampón, un vehículo parenteral médico, un excipiente, una disolución acuosa, una suspensión, un disolvente, una emulsión, un detergente, un agente quelante, un agente solubilizador, una sal, un colorante, un polímero, un hidrogel, un tensioactivo, un emulsionante, un adyuvante, una carga, un conservante, un estabilizador, un aceite, un aglutinante, un disgregante, un absorbente, un agente aromatizante, y similares tal como se conoce ampliamente en la técnica.

A continuación en el presente documento, la presente invención se describe en detalle.

- 35 La presente invención proporciona un compuesto de fórmula (I), o una sal, un hidrato, un solvato o un estereoisómero farmacéuticamente aceptable del mismo:

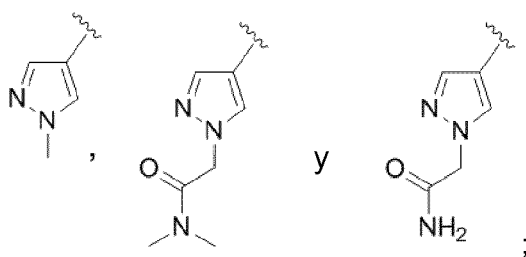


- 40 en la que,

R<sub>1</sub> se selecciona del grupo que consiste en alquilo C<sub>1-10</sub>, cicloalquilo C<sub>3-10</sub>, cicloalquil C<sub>3-10</sub>-alquilo C<sub>1-10</sub>, alquil C<sub>1-10</sub>-cicloalquilo C<sub>3-10</sub>, haloalquilo C<sub>1-10</sub>, alqueno C<sub>2-10</sub> y NRbRb',

- 45 en la que, Rb y Rb' se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C<sub>1-10</sub>, alquil C<sub>1-10</sub>-arilo, cicloalquilo C<sub>3-10</sub>, cicloalquil C<sub>3-10</sub>-alquilo C<sub>1-10</sub>, alquil C<sub>1-10</sub>-cicloalquilo, formilo, heterociclilo, heterocicliclalquilo, haloalquilo C<sub>1-10</sub>, heteroarilo, aralquilo, heteroarilalquilo C<sub>1-10</sub>, heteroarilarilo, biciclilo condensado, biarilo, ariloxiarilo, heteroariloxiarilo, ariloxiheteroarilo, heteroariloxiheteroarilo, alqueno C<sub>2-10</sub>, alquino C<sub>2-10</sub>, azido, nitro y ciano;

- 50 R<sub>2</sub> se selecciona del grupo que consiste en halo, haloalquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxilo C<sub>1-6</sub>, haloalcoxilo C<sub>1-6</sub>, ciano, CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -CONHRd y grupos heteroaromáticos seleccionados del grupo que consiste en:

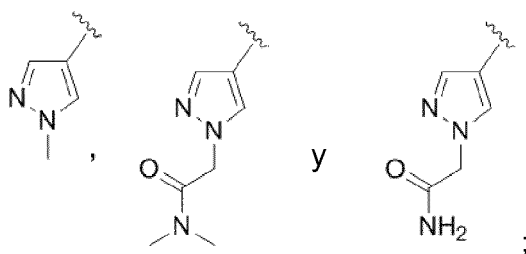


R<sub>3</sub> se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, hidroxilo, halo, alquilo C<sub>1-6</sub>, haloalquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxilo C<sub>1-6</sub>, haloalcoxilo C<sub>1-6</sub>, nitro, ciano, CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -COORd y -CONHRd; y

5 Rd es alquilo C<sub>1-3</sub> o hidroxilalquilo C<sub>1-3</sub>.

Preferiblemente, R<sub>1</sub> es alquilo C<sub>1-6</sub>, cicloalquilo C<sub>3-10</sub> o NRbRb', en la que Rb y Rb' son cada uno independientemente hidrógeno o alquilo C<sub>1-6</sub>; y

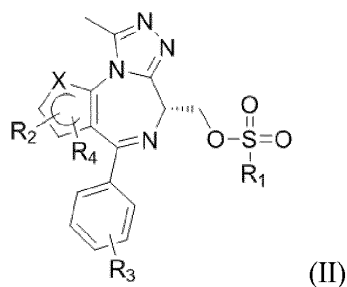
10 R<sub>2</sub> es alcoxilo C<sub>1-6</sub>, -CONHRd o grupos heteroaromáticos seleccionados del grupo que consiste en:



15 R<sub>3</sub> es halo; y

Rd es alquilo C<sub>1-3</sub> o hidroxilalquilo C<sub>1-3</sub>.

20 Además, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula (II), o una sal, un hidrato, un solvato o un estereoisómero farmacéuticamente aceptable del mismo:



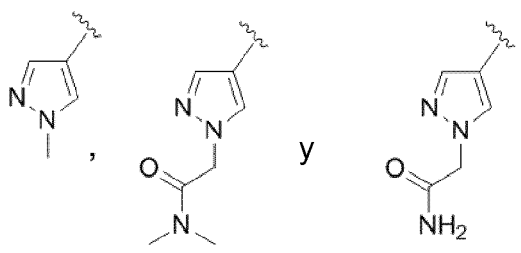
25 en la que,

X es C o S;

30 R<sub>1</sub> se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C<sub>1-10</sub>, alquil C<sub>1-10</sub>-arilo, cicloalquilo C<sub>3-10</sub>, cicloalquil C<sub>3-10</sub>-alquilo C<sub>1-10</sub>, alquil C<sub>1-10</sub>-cicloalquilo C<sub>3-10</sub>, formilo, heterociclilo, heterociclicalquilo C<sub>1-10</sub>, haloalquilo C<sub>1-10</sub>, heteroarilo, aralquilo, heteroarilalquilo C<sub>1-10</sub>, heteroarilarilo, biciclilo condensado, biarilo, ariloxiarilo, heteroariloxiarilo, ariloxiheteroarilo, heteroariloxiheteroarilo, alquenilo C<sub>2-10</sub>, alquinilo C<sub>2-10</sub>, azido, nitro, ciano, ORa, NRbRb' y CORc,

35 en la que, Ra, Rb, Rb' y Rc se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C<sub>1-10</sub>, alquil C<sub>1-10</sub>-arilo, cicloalquilo C<sub>3-10</sub>, cicloalquil C<sub>3-10</sub>-alquilo C<sub>1-10</sub>, alquil C<sub>1-10</sub>-cicloalquilo, formilo, heterociclilo, heterociclicalquilo, haloalquilo C<sub>1-10</sub>, heteroarilo, aralquilo, heteroarilalquilo C<sub>1-10</sub>, heteroarilarilo, biciclilo condensado, biarilo, ariloxiarilo, heteroariloxiarilo, ariloxiheteroarilo, heteroariloxiheteroarilo, alquenilo C<sub>2-10</sub>, alquinilo C<sub>2-10</sub>, azido, nitro y ciano;

40 R<sub>2</sub> y R<sub>4</sub> se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, hidroxilo, halo, alquilo C<sub>1-6</sub>, haloalquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxilo C<sub>1-6</sub>, haloalcoxilo C<sub>1-6</sub>, nitro, ciano, CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -COORd, -CONHRd y grupos heteroaromáticos seleccionados del grupo que consiste en:



5  $R_3$  se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, hidroxilo, halo, alquilo  $C_{1-6}$ , haloalquilo  $C_{1-6}$ , alcoxilo  $C_{1-6}$ , haloalcoxilo  $C_{1-6}$ , nitro, ciano,  $CF_3$ ,  $-OCF_3$ ,  $-COORd$  y  $-CONHRd$ ; y

$Rd$  es alquilo  $C_{1-3}$  o hidroxialquilo  $C_{1-3}$ .

Preferiblemente,  $X$  es  $S$ ;

10

$R_1$  es alquilo  $C_{1-6}$  o  $NRbRb'$ , en la que  $Rb$  y  $Rb'$  son cada uno independientemente hidrógeno o alquilo  $C_{1-6}$ ;

$R_2$  y  $R_4$  son cada uno independientemente hidrógeno o alquilo  $C_{1-6}$ ; y

15

$R_3$  es halo.

Los ejemplos de compuestos más preferidos según la presente invención son:

20

metanosulfonato de  $(R)$ -(6-(4-clorofenil)-8-metoxi-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-4-il)metilo;

etanosulfonato de  $(R)$ -(6-(4-clorofenil)-8-metoxi-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-4-il)metilo;

propan-1-sulfonato de  $(R)$ -(6-(4-clorofenil)-8-metoxi-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-4-il)metilo;

25

ciclopropanosulfonato de  $(R)$ -(6-(4-clorofenil)-8-metoxi-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-4-il)metilo;

metanosulfonato de  $(R)$ -(6-(4-cianofenil)-8-metoxi-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-4-il)metilo;

30

sulfamato de  $(R)$ -(6-(4-clorofenil)-8-metoxi-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-4-il)metilo;

dimetilsulfamato de  $(R)$ -(6-(4-clorofenil)-8-metoxi-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-4-il)metilo;

35

metilsulfamato de  $(R)$ -(6-(4-clorofenil)-8-metoxi-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-4-il)metilo;

metanosulfonato de  $(R)$ -(6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-4-il)metilo;

40

metanosulfonato de  $(R)$ -(8-(1-(2-amino-2-oxoetil)-1H-pirazol-4-il)-6-(4-clorofenil)-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-4-il)metilo;

metanosulfonato de  $(R)$ -(6-(4-clorofenil)-8-(1-(2-(dimetilamino)-2-oxoetil)-1H-pirazol-4-il)-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-4-il)metilo;

45

metanosulfonato de  $(R)$ -(6-(4-clorofenil)-8-((2-hidroxietyl)carbamoil)-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-4-il)metil;

metanosulfonato de  $(R)$ -(4-(4-clorofenil)-2,3,9-trimetil-6H-tieno[3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-6-il)metilo;

50

sulfamato de  $(R)$ -(4-(4-clorofenil)-2,3,9-trimetil-6H-tieno[3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-6-il)metilo;

dimetilsulfamato de  $(R)$ -(4-(4-clorofenil)-2,3,9-trimetil-6H-tieno[3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-6-il)metilo; y

metilsulfamato de  $(R)$ -(4-(4-clorofenil)-2,3,9-trimetil-6H-tieno[3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-6-il)metilo.

55

Los compuestos de la presente invención comprenden derivados sulfonato y derivados sulfamato que inhiben selectivamente proteínas que contienen BRD tales como BRD2, BRD3 y BRD4.



Los compuestos de la presente invención se evaluaron para determinar la potencia *in vitro* usando la unión de BRD y el ensayo de actividad antiproliferativa de células cancerosas. La eficacia *in vivo* de los compuestos se ha confirmado usando modelos animales inducidos por cáncer. Los compuestos de la presente invención mostraron una inhibición significativa de actividad de unión de BRD a péptidos de histona acetilada y excelentes propiedades farmacocinéticas en ratón, rata y perro.

Los compuestos de la presente invención pueden usarse *in vitro* o *in vivo* para inhibir el crecimiento de una célula cancerosa; o *in vitro* o *in vivo* para tratar un mamífero que lo necesita.

Los compuestos de fórmula (I) o (II) pueden formar sales, y las sales de los compuestos se incluyen dentro del alcance de la invención.

Los términos "sal" o "sal farmacéuticamente aceptable", tal como se usan en el presente documento, se refieren a sales inorgánicas u orgánicas de un compuesto. Estas sales pueden prepararse, por ejemplo, haciendo reaccionar el compuesto de fórmula (I) o (II) con una cantidad de ácido o base, tal como una cantidad equivalente, en un medio tal como uno en el que la sal formada luego precipite, o en un medio acuoso seguido por liofilización. Las sales representativas incluyen bisulfato, sulfato, bencenosulfonato, canforsulfonato, laurilsulfonato, metanosulfonato, naftalenosulfonato, toluenosulfonato, acetato, trifluoroacetato, benzoato, borato, butirato, citrato, formiato, fumarato, bromhidrato, clorhidrato, yodhidrato, lactato, laurato, maleato, malonato, mesilato, nitrato, oxalato, fosfato, hexafluorofosfato, propionato, salicilato, estearato, succinato, tartrato, tiocianato, y similares. Las sales pueden incluir sales básicas basadas en los metales alcalinos y alcalinotérreos, tales como calcio, sodio, litio, magnesio y potasio; o con bases orgánicas tales como con aminas orgánicas (por ejemplo, dicitclohexilamina, *t*-butilamina, metilamina, dimetilamina, trietilamina, etilamina, procaína, morfina, N-metilpiperidina, dibencilamina, y similares); o como una sal de amonio.

Los compuestos de fórmula (I) o (II) pueden existir en una forma solvatada o forma no solvatada. Los solvatos del compuesto de la presente invención pueden formarse en un procedimiento de síntesis en el que el compuesto se asocia físicamente con una o más moléculas de disolvente (por ejemplo, mediante unión iónica y/o covalente). Opcionalmente, puede convertirse en un solvato disolviendo el compuesto en cantidades deseadas de un disolvente de elección (por ejemplo, disolvente orgánico, agua, o mezclas de los mismos) para formar una disolución, calentando la disolución a una temperatura superior que temperatura ambiente, y enfriando la disolución a una velocidad suficiente para formar cristales del solvato, que luego pueden aislarse de manera adicional usando métodos conocidos en la técnica. Los ejemplos de disolventes adecuados incluyen metanolatos, etanolatos, hidratos (en los que la molécula de disolvente es agua), y similares.

Los compuestos de fórmula (I) o (II) pueden contener centros asimétricos o quirales, y por tanto existir en diferentes formas isoméricas. Todos los estereoisómeros (por ejemplo, isómeros geométricos, isómeros ópticos, y similares), formas enantioméricas, formas diastereoméricas, formas tautoméricas e isómeros posicionales de los compuestos de la invención se incluyen también dentro del alcance de la invención. Una primera forma conformacional de un compuesto puede separarse de una segunda y diferente forma conformacional del compuesto usando métodos conocidos en la técnica tales como cromatografía, cristalización y métodos de síntesis que dan como resultado selectivamente una forma conformacional deseada particular.

Además, la presente invención proporciona una composición farmacéutica para su uso en la prevención o el tratamiento de una transformación precancerosa o un cáncer, que comprende el compuesto de fórmula (I) o (II), o una sal, un hidrato, un solvato o un estereoisómero farmacéuticamente aceptable del mismo como principio activo, y un portador farmacéuticamente aceptable.

La transformación precancerosa o un cáncer se selecciona del grupo que consiste en enfermedades autoinmunitarias, tumores epiteliales, melanoma, leucemia tal como leucemia promielocítica aguda, linfoma, tumores sólidos o no linfoides tales como sarcoma osteogénico, cáncer de colon, cáncer de páncreas, cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer de ovario, cáncer cerebral, cáncer de cuello uterino y cáncer de pulmón.

La composición farmacéutica según la presente invención puede administrarse una vez o múltiples veces, según sea necesario, para suministrar una cantidad médicamente eficaz de la composición, por ejemplo, una cantidad eficaz para mediar la modulación de una enfermedad, un trastorno o un estado inhibiendo el BRD en un individuo que recibe la composición. Por ejemplo, una cantidad médicamente eficaz de la composición farmacéutica que comprende el compuesto de la invención puede ser una cantidad que ingresa en las células que están en contacto con el compuesto, y que da como resultado la inhibición del BRD dentro células. Una cantidad médicamente eficaz de este tipo de la composición farmacéutica dependerá de tales factores como el modo de administración, la formulación para la administración, la enfermedad que va a modularse, el tamaño y la salud del individuo que va a recibir una composición de este tipo, y un médico experto en la técnica puede tener en cuenta otros factores.

Una cantidad de la composición farmacéutica que va a administrarse puede variar desde 0,01 miligramos hasta aproximadamente 1.000 miligramos, y más normalmente desde aproximadamente 1 miligramo al día hasta aproximadamente 200 miligramos al día. Un experto en la técnica puede aplicar principios y modelos conocidos de

suministro de fármacos y farmacocinética para determinar un intervalo probable de dosificaciones que van a someterse a prueba en estudios preclínicos y clínicos para la determinación de una cantidad médicamente eficaz de un compuesto de la invención.

5 El portador farmacéuticamente aceptable puede seleccionarse del grupo que consiste en un aglutinante (por ejemplo, jarabe, sorbitol, goma, almidón de maíz, gelatina y goma arábica), una carga (por ejemplo, lactosa, azúcar, almidón y fosfato de calcio), un excipiente (por ejemplo, fosfato de dicalcio), un agente disgregante (por ejemplo, almidón vegetal y ácido algínico), un lubricante (por ejemplo, estearato de magnesio) y un agente aromatizante (por ejemplo, agente edulcorante, aromatizantes naturales y artificiales).

10 El portador farmacéuticamente aceptable puede facilitar uno o más de almacenamiento, estabilidad, administración y suministro, de la composición. El portador puede ser particulado, de manera que la composición puede estar, por ejemplo, en un polvo o una forma sólida. El portador puede estar en una fórmula semisólida, gel o líquida, de manera que la composición farmacéutica puede ingerirse, inyectarse, aplicarse o administrarse de otra manera. El portador puede ser gaseoso, de manera que la composición farmacéutica puede inhalarse.

15 Para la administración oral de la composición farmacéutica que contiene el compuesto de la presente invención, las formulaciones adecuadas pueden presentarse en forma de comprimidos, comprimidos oblongos, cápsulas, y similares, en los que normalmente el compuesto de la presente invención puede estar presente en una cantidad predeterminada como un polvo, gránulos, una disolución o una suspensión como el único principio activo, o en combinación con uno o más agentes farmacéuticos adicionales. Tales formulaciones orales pueden recubrirse o no para modificar su disgregación y/o absorción. El recubrimiento puede realizarse usando agentes de recubrimiento convencionales y métodos conocidos en la técnica.

25 El modo de administración del compuesto o la composición farmacéutica de la presente invención a un individuo que lo necesita puede ser cualquier modo conocido en la técnica que sea adecuado para suministrar una composición farmacéutica, y particularmente adecuado para tratar una enfermedad, un trastorno o un estado inhibiendo el BRD. La composición farmacéutica puede administrarse por vía intravenosa, intraperitoneal, oral, subcutánea, intramuscular, intranasal, transdérmica, por perfusión y mediante técnicas peristálticas.

30 La composición farmacéutica según la presente invención puede comprender además al menos un agente farmacéutico adicional.

35 Específicamente, la composición farmacéutica puede combinarse también con otras terapias, tales como uno o más agentes farmacéuticos adicionales, para tratar una enfermedad, un trastorno o un estado, es decir, una transformación precancerosa o un cáncer. Tal terapia de combinación puede administrarse de manera concurrente, secuencial o en régimen alternando entre la composición de la invención y la otra terapia.

40 Además, los compuestos que tienen actividad de inhibición de BRD de la presente invención, cuando se usan para tratar una transformación precancerosa o un cáncer, pueden usarse en combinación con uno o más agentes quimioterápicos, con el potencial para potenciar de manera sinérgica la apoptosis y/o la inhibición del crecimiento de células cancerosas mediante la combinación.

45 Tales agentes quimioterápicos incluyen, pero no se limitan a, bloqueantes de LSD1, ligandos del receptor activador de la proliferación de peroxisomas (PPAR) (por ejemplo, rosiglitazona); agentes alquilantes (por ejemplo, mostazas de nitrógeno, tales como mecloretamina, clorambucilo, ciclofosfamida, ifosfamida y melfalán; nitrosoureas, tales como estreptozocina, carmustina y lomustina; sulfonatos de alquilo, tales como busulfán; triazinas, tales como dacarbazina y temozolomida; etileniminas, tales como tiotepa y altretamina; y fármacos basados en platino, tales como cisplatino, carboplatino y oxalplatino); antimetabolitos (por ejemplo, 5-fluorouracilo, 6-mercaptopurina, capecitabina, cladribina, clofarabina, citarabina, floxuridina, fludarabina, gemcitabina, hidroxiurea, metotrexato, pemetrexed, pentostatina y tioguanina); antibióticos antitumorales (por ejemplo, antraciclinas, tales como daunorrubicina, doxorrubicina, epirubicina e idarrubicina; y actinomicina-D, bleomicina, mitomicina-C y mitoxantrona); inhibidores de la topoisomerasa (por ejemplo, inhibidores de la topoisomerasa I tales como topotecán e irinotecán; e inhibidores de la topoisomerasa II, tales como etopósido, tenipósido y mitoxantrona); inhibidores mitóticos (por ejemplo, taxanos, tales como paclitaxel y docetaxel; epotilonas tales como ixabepilona; alcaloides de vinca, tales como vinblastina, vincristina y vinorelbina; y estramustina); corticosteroides (por ejemplo, prednisona, metilprednisolona y dexametasona); inhibidores de proteosoma (por ejemplo, bortezomib); terapias dirigidas (por ejemplo, imatinib, gefitinib, sunitinib, rituximab, alemtuzumab, trastuzumab y bortezumib); agentes de diferenciación (por ejemplo, retinoides, tretinoína y bexaroteno); y agentes hormonales (por ejemplo, antiestrógenos, tales como fulvestrant, tamoxifeno y toremifeno; inhibidores de la aromatasas, tales como anastrozol, exemestano y letrozol; progestinas, tales como acetato de megestrol; estrógenos; antiandrógenos, tales como bicalutamida, flutamida y nilutamida; hormona liberadora de gonadotropina (GnRH), también conocida como agonistas o análogos de la hormona liberadora de hormona luteinizante (LHRH), tales como leuprolida y goserelina).

65 Además, la composición farmacéutica según la presente invención puede administrarse a un mamífero que lo necesita. El mamífero puede ser un ser humano.

5 Cuando se aplica la composición farmacéutica según la presente invención, uno o más compuestos de la presente invención pueden administrarse en una cantidad médicamente eficaz como único agente farmacéutico, o pueden administrarse en terapia de combinación en la que una cantidad médicamente eficaz del compuesto de la presente invención se administra con una cantidad médicamente eficaz de al menos un agente farmacéutico adicional.

10 Por tanto, el uso para prevenir o tratar una transformación precancerosa o un cáncer puede comprender las etapas de: (i) administrar al mamífero que lo necesita una primera composición que comprende el compuesto de fórmula (I) o (II), y un portador farmacéuticamente aceptable; y (ii) administrar al mamífero que lo necesita una segunda composición que comprende al menos un agente farmacéutico adicional que comprende un agente quimioterápico.

Cuando se aplica la composición farmacéutica según la presente invención, las composiciones primera y segunda se administran simultánea o secuencialmente y en cualquier orden.

15 Además, la presente invención proporciona un uso del compuesto de la presente invención para la fabricación de un medicamento para prevenir o tratar una transformación precancerosa o un cáncer.

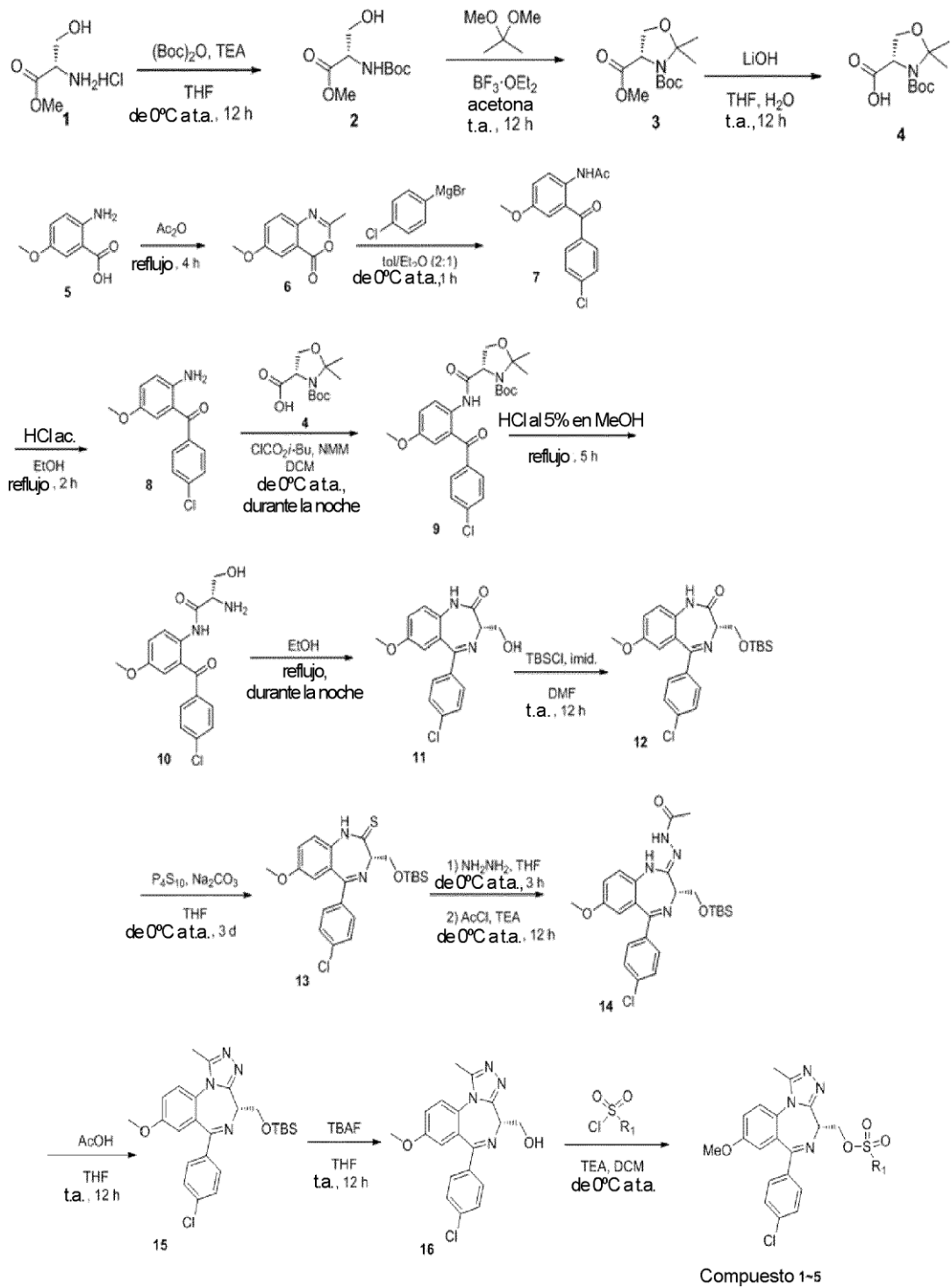
20 La presente invención proporciona también un kit que comprende los compuestos o la composición farmacéutica de la presente invención e instrucciones para su uso.

Los siguientes ejemplos pretenden ilustrar de manera adicional la presente invención sin limitar su alcance.

25 Los espectros de RMN se registraron en disolución de  $\text{CDCl}_3$  y  $\text{DMSO}-d_6$  en tubos de diámetro exterior de 5 mm (Norell, Inc. 507-HP) a  $30^\circ\text{C}$  y se recogieron en un aparato VRMNS-400 de Varian a 400 MHz para  $^1\text{H}$ . Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) son relativos a tetrametilsilano ( $\text{TMS} = 0,00$  ppm) y se expresan en ppm. CL/EM se tomó en un espectrómetro de masas Ion-trap en FINNIGAN Thermo LCQ Advantage MAX, serie Agilent LC 1200 (Columna: YMC Hydrosphere (C18,  $\text{Ø}4,6 \times 50$  mm,  $3 \mu\text{m}$ ,  $120 \text{ \AA}$ ,  $40^\circ\text{C}$ ) que opera en modo de ionización ESI(+); velocidad de flujo =  $1,0$  ml/min; y fase móvil = ácido heptafluorobutírico (HFBA) al 0,01% ácido y alcohol isopropílico (IPA) al 1,0% en agua o  $\text{CH}_3\text{CN}$ ).

30

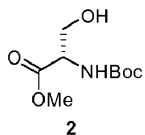
#### **Ejemplos 1 a 5**



en las que,

5 R<sub>1</sub> tiene los mismos significados tal como se definieron anteriormente.

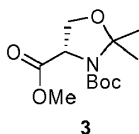
Etapa 1: preparación de (S)-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-3-hidroxiopropanoato de metilo (producto intermedio 2)



A una disolución de clorhidrato del éster metílico de (L)-serina (5,00 g, 32,1 mmol) en tetrahidrofurano seco (THF) (64,3 ml) se le añadió trietilamina (TEA) (9,85 ml, 70,7 mmol) seguido por una disolución de (Boc)<sub>2</sub>O (7,46 ml, 32,1 mmol) en THF (30 ml) a 0°C. Se agitó la mezcla de reacción durante 12 horas a temperatura ambiente. Después de la concentración a vacío de la mezcla resultante, se repartió el residuo entre acetato de etilo (EtOAc) y agua. Se extrajo la fase acuosa con EtOAc dos veces. Se secaron las fases orgánicas combinadas sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron y se concentraron a vacío para obtener el compuesto del título (7,16 g, >99%) como un aceite incoloro, que se usó para la siguiente reacción sin purificación adicional.

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 5,54 (d, *J* = 6,4 Hz, 1H), 4,39 (s a, 1H), 3,96 (ABX, *J*<sub>AB</sub> = 11,2 Hz, *J*<sub>BX</sub> = 3,6 Hz, 1H), 3,89 (ABX, *J*<sub>AB</sub> = 11,2 Hz, *J*<sub>AX</sub> = 3,6 Hz, 1H), 3,79 (s, 3H), 2,81 (s a, 1H), 1,46 (s, 9H).

Etapa 2: preparación de (S)-2,2-dimetiloxazolidin-3,4-dicarboxilato de 3-*terc*-butilo y 4-metilo (producto intermedio 3)

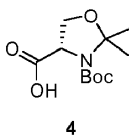


A una disolución de (S)-2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)-3-hidroxiopropanoato de metilo (6,16 g, 28,1 mmol) y 2,2-dimetoxipropano (34,4 ml, 281 mmol) en acetona seca (55 ml) se le añadió dietil éter de trifluoruro de boro (BF<sub>3</sub>·OEt<sub>2</sub>) (0,214 ml, 1,68 mmol) a temperatura ambiente. Se agitó la mezcla de reacción durante 12 horas a temperatura ambiente. Después de la concentración a vacío de la mezcla resultante, se diluyó el residuo con diclorometano (DCM), y se lavó con disolución ac. de NaHCO<sub>3</sub> al 50% y agua dos veces. Se secó la fase orgánica separada sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró a vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna sobre SiO<sub>2</sub> (Hex:EtOAc=10:1) para obtener el compuesto del título (6,75 g, 93%) como un aceite amarillo.

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): (dos conjuntos de rotámeros) δ 4,38 (dd, *J* = 6,8, 2,8 Hz, 1H), 4,15 (ddd, *J* = 9,2, 9,2, 7,2 Hz, 2H), 3,76 (s, 3H), 1,83 (s, 3H), 1,54 (s, 3H), 1,42 (s, 9H).

δ 4,49 (dd, *J* = 6,8, 2,8 Hz, 1H), 4,05 (ddd, *J* = 9,2, 9,2, 3,2 Hz, 2H), 3,76 (s, 3H), 1,64 (s, 3H), 1,50 (s, 12H).

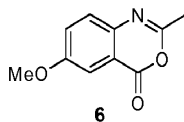
Etapa 3: preparación de ácido (S)-3-(*terc*-butoxicarbonil)-2,2-dimetiloxazolidin-4-carboxílico (producto intermedio 4)



A una disolución de (S)-2,2-dimetiloxazolidin-3,4-dicarboxilato de 3-*terc*-butilo y 4-metilo (6,75 g, 26,0 mmol) en THF (80 ml) y agua (40 ml) se le añadió hidróxido de litio hidratado (1,20 g, 28,6 mmol) a temperatura ambiente. Se agitó la mezcla de reacción durante 12 horas a temperatura ambiente. Después de la evaporación de disolventes volátiles, se diluyó el residuo con EtOAc, se neutralizó con HCl ac. 2 N, se lavó con salmuera, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró a vacío para obtener el compuesto del título (6,32 g, 99%), que se usó para la siguiente reacción sin purificación adicional.

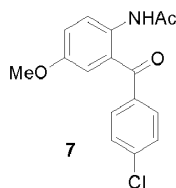
<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): (dos conjuntos de rotámeros) δ 4,40-4,51 (m, 1H), 4,17-4,28 (m, 1H), 4,11-4,15 (m, 1H), 1,62 y 1,67 (s y s, 3H), 1,51 y 1,54 (s y s, 3H), 1,43 y 1,51 (s y s, 9H).

Etapa 4: preparación de 6-metoxi-2-metil-4H-benzo[d][1,3]oxazin-4-ona (producto intermedio 6)



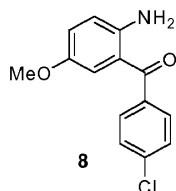
Se sometió a reflujo una mezcla de ácido 2-amino-5-metoxibenzoico (5,00 g, 29,9 mmol) y anhídrido acético (28,2 ml, 299 mmol) durante 4 horas y luego se concentró a vacío. Se diluyó el residuo con tolueno y se concentró a vacío dos veces para retirar el ácido acético restante. Se purificó el sólido residual mediante cromatografía en columna sobre SiO<sub>2</sub> (Hex:EtOAc = de 3:1 a 1:1 a 1:2) para obtener el compuesto del título (5,68 g, 99%) como un sólido amarillo pálido.

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,56 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H), 7,48 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,36 (dd, *J* = 8,8, 3,2 Hz, 1H), 3,90 (s, 3H), 2,45 (s, 3H).

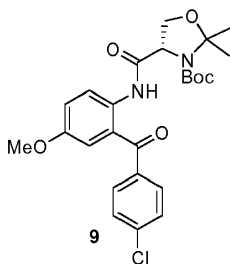
Etapa 5: preparación de *N*-(2-(4-clorobenzoil)-4-metoxifenil)acetamida (producto intermedio 7)

- 5 A una disolución de 6-metoxi-2-metil-4H-benzo[d][1,3]oxazin-4-ona (5,68 g, 29,7 mmol) en tolueno (66 ml)/Et<sub>2</sub>O (33 ml) a 0°C se le añadió gota a gota bromuro de (4-clorofenil)magnesio (35,7 ml, 35,7 mmol, disolución 1 M en THF). Se dejó calentar la mezcla de reacción hasta temperatura ambiente y se agitó durante 1 hora. Después de extinguirse con HCl ac. 1 N, se extrajo la fase acuosa separada con EtOAc dos veces. Se lavaron las fases orgánicas combinadas con salmuera, se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron y se concentraron a vacío para obtener el compuesto del título, que se usó para la siguiente reacción sin purificación adicional.

CL/EM m/z 303,99 [M+H]<sup>+</sup>, Tr = 0,64 min

Etapa 6: preparación de (2-amino-5-metoxifenil)(4-clorofenil)metanona (producto intermedio 8)

- 15 Se disolvió la *N*-(2-(4-clorobenzoil)-4-metoxifenil)acetamida en bruto obtenida en la etapa 5 en EtOH (60 ml), y luego se añadió a la misma HCl ac. 6 N (23 ml). Se sometió a reflujo la mezcla de reacción durante 2 horas y se concentró a vacío. Se disolvió el residuo en EtOAc y se neutralizó con NaOH ac. 1 N. Se extrajo la fase acuosa separada con EtOAc dos veces y se lavaron las fases orgánicas combinadas con salmuera, se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron y se concentraron a vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna sobre SiO<sub>2</sub> (Hex:EtOAc = de 10:1 a 7:1 a 5:1) para obtener el compuesto del título (5,10 g, 65% para 2 etapas) como un sólido amarillo.
- 20 <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,63 (dd, *J* = 6,4, 1,6 Hz, 2H), 7,44 (dd, *J* = 6,8, 1,6 Hz, 2H), 7,00 (dd, *J* = 8,8, 3,2 Hz, 1H), 6,89 (d, *J* = 3,2 Hz, 1H), 6,72 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 5,71 (s a, 2H), 3,66 (s, 3H).

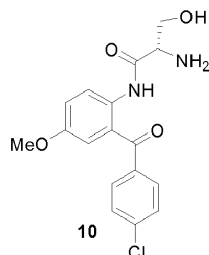
Etapa 7: preparación de (S)-4-((2-(4-clorobenzoil)-4-metoxifenil)carbamoil)-2,2-dimetiloxazolidin-3-carboxilato de *terc*-butilo (producto intermedio 9)

- 35 A una disolución de ácido (S)-3-(*terc*-butoxicarbonil)-2,2-dimetiloxazolidin-4-carboxílico (4,78 g, 19,5 mmol) en DCM (100 ml) se le añadió *N*-metilmorfolina (2,57 ml, 23,4 mmol) seguido por clorofornato de isobutilo (3,07 ml, 23,4 mmol) a 0°C. Después de agitarse durante 30 min a temperatura ambiente, se añadió (2-amino-5-metoxifenil)(4-clorofenil)metanona (5,10 g, 19,5 mmol) a la mezcla. Se agitó la mezcla resultante durante la noche a temperatura ambiente. Se diluyó la mezcla de reacción con DCM, se lavó con HCl ac. 2 N, NaHCO<sub>3</sub> ac. saturado y agua, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró a vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna sobre SiO<sub>2</sub> (Hex:EtOAc = de 5:1 a 3:1 a 1:1) para obtener el compuesto del título (8,50 g, 89%) como un aceite amarillo viscoso.

- 40 <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): (dos conjuntos de rotámeros) δ 10,83 y 10,73 (s a y s a, 1H), 8,56 (s a, 1H), 7,69 (d, *J* = 7,6 Hz, 2H), 7,45 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,14 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,98 (s a, 1H), 4,21-4,51 (m, 3H), 3,76 (s, 3H), 1,84 y 1,79 (s y s, 3H), 1,59 y 1,57 (s y s, 4H), 1,46 (s, 3H), 1,24-1,29 (m, 5H).

Etapa 8: preparación de (S)-2-amino-*N*-(2-(4-clorobenzoil)-4-metoxifenil)-3-hidroxi-propanamida (producto intermedio

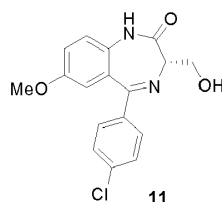
10)



5 A una disolución de (S)-4-((2-(4-clorobenzoyl)-4-metoxifenil)carbamoyl)-2,2-dimetiloxazolidin-3-carboxilato de *terc*-butilo (3,00 g, 6,14 mmol) en MeOH (30 ml) se le añadió HCl al 5% conc. (6,0 ml) a temperatura ambiente. Se sometió a reflujo la mezcla de reacción durante 5 horas y luego se concentró a vacío. Se diluyó el residuo con EtOAc y se lavó con NaHCO<sub>3</sub> ac. saturado y salmuera, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró a vacío para obtener el compuesto del título como un sólido amarillo, que se usó para la siguiente reacción sin purificación adicional.

10 <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 11,33 (s, 1H), 8,42 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 7,73 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 7,46 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,13 (dd, *J* = 9,2, 2,8 Hz, 1H), 6,99 (d, *J* = 3,2 Hz, 1H), 3,94 (ABX, *J*<sub>AB</sub> = 10,7 Hz, *J*<sub>BX</sub> = 5,5 Hz, 1H), 3,79 (ABX, *J*<sub>AB</sub> = 10,7 Hz, *J*<sub>AX</sub> = 4,9 Hz, 1H), 3,77 (s, 3H), 3,58 (dd, *J* = 5,6, 5,2 Hz, 1H), 2,01 (s, 2H). \* El pico del OH no se observó.

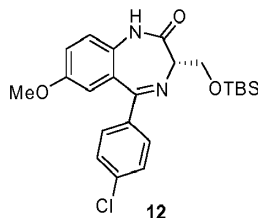
15 Etapa 9: preparación de (S)-5-(4-clorofenil)-3-(hidroximetil)-7-metoxi-1*H*-benzo[e][1,4]-diazepin-2(3*H*)-ona (producto intermedio 11)



20 Se disolvió la (S)-2-amino-*N*-(2-(4-clorobenzoyl)-4-metoxifenil)-3-hidroxi-propanamida en bruto obtenida en la etapa 8 en EtOH (30 ml), y se sometió a reflujo la mezcla de reacción durante la noche y se concentró a vacío para obtener el compuesto del título (2,10 g, >99%) como un sólido amarillo, que se usó para la siguiente reacción sin purificación adicional.

25 <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,95 (s, 1H), 7,54 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,37 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,11 (dd, *J* = 8,8, 2,4 Hz, 1H), 7,06 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 6,77 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H), 4,39-4,45 (m, 1H), 4,21-4,25 (m, 1H), 3,80 (dd, *J* = 7,2, 5,2 Hz, 1H), 3,74 (s, 3H), 2,83 (m, 1H).

30 Etapa 10: preparación de (S)-3-(((*terc*-butildimetilsilil)oxi)metil)-5-(4-clorofenil)-7-metoxi-1*H*-benzo[e][1,4]diazepin-2(3*H*)-ona (producto intermedio 12)



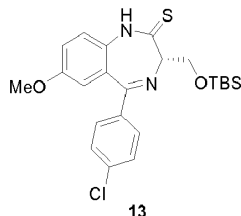
35 A una disolución de (S)-5-(4-clorofenil)-3-(hidroximetil)-7-metoxi-1*H*-benzo[e][1,4]diazepin-2(3*H*)-ona (1,90 g, 5,74 mmol) en bruto en DMF (30 ml) se le añadieron imidazol (0,665 g, 9,77 mmol) seguido por cloruro de *t*-butildimetilsililo (TBDMS-Cl) (1,30 g, 8,62 mmol) a temperatura ambiente. Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 12 horas. Después de la concentración a vacío de la mezcla resultante, se diluyó el residuo con EtOAc, se lavó con HCl ac. 2 N, NaHCO<sub>3</sub> ac. saturado, agua y salmuera sucesivamente, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró a vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna sobre SiO<sub>2</sub> (Hex:EtOAc = de 7:1 a 5:1 a 3:1) para obtener el compuesto del título (2,30 g, 90%) como un sólido blanco.

45 <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 9,27 (s, 1H), 7,51 (dd, *J* = 8,4, 2,0 Hz, 2H), 7,33 (d, *J* = 8,4, 2,0 Hz, 2H), 7,14 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,08 (dd, *J* = 8,8, 2,8 Hz, 1H), 6,74 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H), 4,56 (ABX, *J*<sub>AB</sub> = 10,1 Hz, *J*<sub>AX</sub> = 6,5 Hz, 1H), 4,29 (ABX, *J*<sub>AB</sub> = 10,1 Hz, *J*<sub>AX</sub> = 6,7 Hz, 1H), 3,74 (dd, *J* = 6,8, 6,0 Hz, 1H), 3,73 (s, 3H), 0,94 (s, 9H), 0,18 (s, 3H), 0,16 (s,

3H).

Etapa 11: preparación de (S)-3-(((*tert*-butildimetilsilil)oxi)metil)-5-(4-clorofenil)-7-metoxi-1*H*-benzo[e][1,4]diazepin-2(3*H*)-tiona (producto intermedio 13)

5



Se agitó una mezcla de P<sub>4</sub>S<sub>10</sub> (1,00 g, 2,25 mmol) y carbonato de sodio (0,238 g, 2,25 mmol) en THF (23 ml) durante 1 hora a temperatura ambiente y se enfrió hasta 0°C. Después de la adición de una disolución de (S)-3-(((*tert*-butildimetilsilil)oxi)metil)-5-(4-clorofenil)-7-metoxi-1*H*-benzo[e][1,4]diazepin-2(3*H*)-ona (2,00 g, 4,49 mmol) en THF (5,0 ml) a la mezcla de reacción, se agitó la mezcla de reacción a 0°C durante 30 min y luego durante 3 días a temperatura ambiente. Después de la filtración de la mezcla resultante a través de un lecho de Celite, se concentró a vacío el filtrado. Se disolvió el residuo en EtOAc, se lavó con NaHCO<sub>3</sub> ac. saturado dos veces y salmuera, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró a vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna sobre SiO<sub>2</sub> (Hex:EtOAc = 5:1) para obtener el compuesto del título (1,48 g, 71%) como un aceite viscoso.

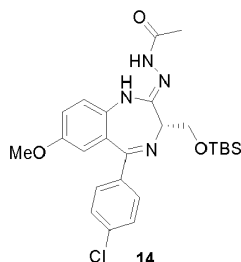
10

15

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 10,77 (s a, 1H), 7,51 (dd, *J* = 8,4, 1,6 Hz, 2H), 7,33 (d, *J* = 8,4, 2,4 Hz, 2H), 7,20 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 7,08 (dd, *J* = 9,2, 3,2 Hz, 1H), 6,76 (d, *J* = 3,2 Hz, 1H), 4,63 (ABX, *J*<sub>AB</sub> = 10,1 Hz, *J*<sub>BX</sub> = 7,3 Hz, 1H), 4,47 (ABX, *J*<sub>AB</sub> = 10,1 Hz, *J*<sub>AX</sub> = 5,5 Hz, 1H), 3,88 (dd, *J* = 7,2, 5,6 Hz, 1H), 3,74 (s, 3H), 0,93 (s, 9H), 0,17 (s, 3H), 0,15 (s, 3H).

20

Etapa 12: preparación de (R,Z)-*N*-(3-(((*tert*-butildimetilsilil)oxi)metil)-5-(4-clorofenil)-7-metoxi-1*H*-benzo[e][1,4]diazepin-2(3*H*)-ilidene)acetohidrazida (producto intermedio 14)



25

A una disolución de (S)-3-(((*tert*-butildimetilsilil)oxi)metil)-5-(4-clorofenil)-7-metoxi-1*H*-benzo[e][1,4]diazepin-2(3*H*)-tiona (1,48 g, 3,21 mmol) en THF (32 ml) se le añadió hidrazina monohidratada (0,604 ml, 19,3 mmol) a 0°C. Se agitó la mezcla de reacción durante 3 horas a temperatura ambiente y se enfrió hasta 0°C. Después de la adición de TEA (2,68 ml, 19,3 mmol) seguido por cloruro de acetilo (1,37 ml, 19,3 mmol), se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 12 horas. Después de la concentración a vacío de la mezcla resultante, se disolvió el residuo en DCM y se lavó con agua. Se secó la fase orgánica separada sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró a vacío para obtener el compuesto del título como un sólido blanco, que se usó para la siguiente reacción sin purificación adicional.

30

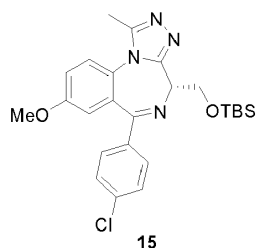
35

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 10,66 (s, 1H), 8,52 (s, 1H), 7,52 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,32 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 7,17 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,04 (dd, *J* = 8,8, 2,8 Hz, 1H), 6,65 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 4,49 (ABX, *J*<sub>AB</sub> = 9,9 Hz, *J*<sub>BX</sub> = 6,9 Hz, 1H), 4,30 (ABX, *J*<sub>AB</sub> = 9,9 Hz, *J*<sub>AX</sub> = 5,9 Hz, 1H), 3,97 (dd, *J* = 6,6, 6,4 Hz, 1H), 3,71 (s, 3H), 2,25 (s, 3H), 0,93 (s, 9H), 0,15 (s, 3H), 0,12 (s, 3H).

40

Etapa 13: preparación de (R)-4-(((*tert*-butildimetilsilil)oxi)metil)-6-(4-clorofenil)-8-metoxi-1-metil-4*H*-benzo[*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepina (producto intermedio 15)

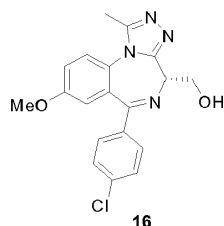




A una disolución de la anterior (*R,Z*)-*N'*-3-(((*tert*-butildimetilsilil)oxi)metil)-5-(4-clorofenil)-7-metoxi-1*H*-benzo-  
[e][1,4]diazepin-2(3*H*)-ilideneacetohidrazida (1,61 g, 3,21 mmol) en bruto en THF (30 ml) se le añadió ácido acético  
(6,00 ml, 105 mmol) a temperatura ambiente. Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante  
12 horas. Después de la concentración a vacío de la mezcla resultante, se diluyó el residuo con EtOAc, se lavó con  
NaHCO<sub>3</sub> ac. saturado, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró a vacío para obtener el compuesto del título  
(1,48 g, 95% para 2 etapas) como un aceite amarillo viscoso.

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,55 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,39 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,35 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,20 (dd, *J* =  
9,2, 2,8 Hz, 1H), 6,90 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H), 4,71 (d, *J* = 6,8 Hz, 2H), 4,17 (t, *J* = 6,4 Hz, 1H), 3,82 (s, 3H), 2,61 (s, 3H),  
0,95 (s, 9H), 0,21 (s, 3H), 0,17 (s, 3H).

Etapas 14: preparación de (*R*)-(6-(4-clorofenil)-8-metoxi-1-metil-4*H*-benzo[*f*][1,2,4]-triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-  
il)metanol (producto intermedio 16)

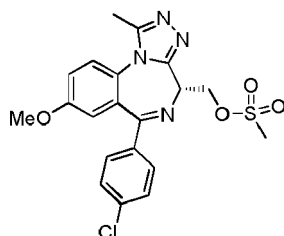


A una disolución de (*R*)-4-(((*tert*-butildimetilsilil)oxi)metil)-6-(4-clorofenil)-8-metoxi-1-metil-4*H*-  
benzo[*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepina (1,48 g, 3,06 mmol) en THF (15 ml) se le añadió fluoruro de tetra-*n*-  
butilamonio (TBAF) (6,13 ml, 6,13 mmol, disolución 1 M en THF) a temperatura ambiente. Se agitó la mezcla de  
reacción a temperatura ambiente durante 12 horas y se extinguió con NH<sub>4</sub>Cl ac. saturado. Se extrajo la mezcla con  
EtOAc dos veces. Se lavaron las fases orgánicas combinadas con salmuera, se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron y  
se concentraron a vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna sobre SiO<sub>2</sub> (EtOAc solo hasta  
EtOAc:MeOH = 8:1 hasta 4:1) para obtener el compuesto del título (983 mg, 87%) como un sólido amarillo.

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,55 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,40 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 7,35 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 7,22 (dd, *J* =  
8,8, 3,2 Hz, 1H), 6,89 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H), 4,64 (ABX, *J*<sub>AB</sub> = 11,6 Hz, *J*<sub>BX</sub> = 5,6 Hz, 1H), 4,53 (ABX, *J*<sub>AB</sub> =  
11,6 Hz, *J*<sub>AX</sub> = 6,8 Hz, 1H), 3,24 (dd, *J* = 6,4, 6,0 Hz, 1H), 3,81 (s, 3H), 2,64 (s, 3H). \*El pico del OH no se observó.

CL/EM *m/z* 369,2 [M+H]<sup>+</sup>, Tr = 2,45 min.

**Ejemplo 1: preparación de metanosulfonato de (*R*)-(6-(4-clorofenil)-8-metoxi-1-metil-4*H*-benzo[*f*]-  
[1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il)metilo (compuesto 1)**



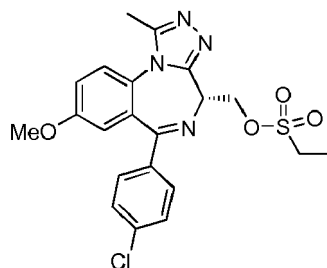
A una disolución de (*R*)-(6-(4-clorofenil)-8-metoxi-1-metil-4*H*-benzo[*f*][1,2,4]-triazolo-[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il)metanol  
(producto intermedio 16, 50,0 mg, 0,136 mmol) en DCM (3,0 ml) se le añadió cloruro de metanosulfonilo (MsCl)  
(0,0210 ml, 0,271 mmol) seguido por TEA (0,0470 ml, 0,339 mmol) a 0°C. Se agitó la mezcla de reacción a 0°C  
durante 15 min y se diluyó con DCM. Se lavó la mezcla resultante con HCl ac. 2 N y NaHCO<sub>3</sub> ac. saturado, se secó  
sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró a vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna sobre

SiO<sub>2</sub> (EtOAc:MeOH = 10:1) para obtener el compuesto del título (56,0 mg, 92%) como un aceite amarillo.

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,55 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,42 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,36 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,24 (dd, *J* = 9,2, 2,8 Hz, 1H), 6,90 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H), 5,30 (ABX, *J*<sub>AB</sub> = 10,3 Hz, *J*<sub>BX</sub> = 7,1 Hz, 1H), 5,17 (ABX, *J*<sub>AB</sub> = 10,3 Hz, *J*<sub>AX</sub> = 6,5 Hz, 1H), 4,46 (dd, *J* = 6,8, 6,4 Hz, 1H), 3,83 (s, 3H), 3,21 (s, 3H), 2,63 (s, 3H).

CL/EM m/z 447,1 [M+H]<sup>+</sup>, Tr = 2,87 min

**Ejemplo 2: preparación de etanosulfonato de (*R*)-(6-(4-clorofenil)-8-metoxi-1-metil-4*H*-benzo[*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il)metilo (compuesto 2)**



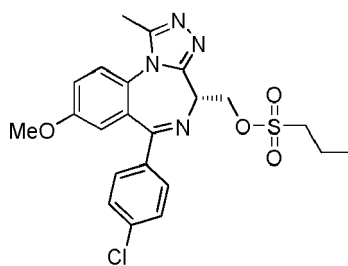
Compuesto 2

A una disolución de (*R*)-(6-(4-clorofenil)-8-metoxi-1-metil-4*H*-benzo[*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il)metanol (producto intermedio 16, 0,100 g, 0,271 mmol) en DCM (3,0 ml) se le añadió cloruro de etanosulfonilo (70,0 mg, 0,542 mmol) seguido por TEA (0,0940 ml, 0,678 mmol) a 0°C. Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 5 horas. Después de la concentración a vacío de la mezcla resultante, se purificó el residuo mediante cromatografía en columna sobre SiO<sub>2</sub> (EtOAc:MeOH = de 10:1 a 5:1) para obtener el compuesto del título (68,0 mg, 54%) como un aceite marrón.

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,55 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,42 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,36 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 7,24 (dd, *J* = 8,8, 2,8 Hz, 1H), 6,90 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H), 5,28 (ABX, *J*<sub>AB</sub> = 10,3 Hz, *J*<sub>BX</sub> = 6,9 Hz, 1H), 5,18 (ABX, *J*<sub>AB</sub> = 10,3 Hz, *J*<sub>AX</sub> = 6,3 Hz, 1H), 4,46 (dd, *J* = 6,8, 6,8 Hz, 1H), 3,83 (s, 3H), 3,33 (q, *J* = 7,2 Hz, 2H), 2,63 (s, 3H), 1,50 (t, *J* = 7,6 Hz, 3H).

CL/EM m/z 461,2 [M+H]<sup>+</sup>, Tr = 3,17 min

**Ejemplo 3: preparación de propan-1-sulfonato de (*R*)-(6-(4-clorofenil)-8-metoxi-1-metil-4*H*-benzo[*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il)metilo (compuesto 3)**



Compuesto 3

A una disolución de (*R*)-4-(((*tert*-butildimetilsilil)oxi)metil)-6-(4-clorofenil)-8-metoxi-1-metil-4*H*-benzo[*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepina (producto intermedio 15, 50,0 mg, 0,136 mmol) en DCM (1 ml) se le añadió cloruro de propan-1-sulfonilo (30,5 μl, 0,271 mmol) seguido por TEA (47,2 μl, 0,339 mmol) a 0°C. Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 3 horas y se diluyó con DCM. Se lavó la mezcla resultante con HCl ac. 2 N y NaHCO<sub>3</sub> ac. saturado, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró a vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna sobre SiO<sub>2</sub> (EtOAc:MeOH = 10:1) para obtener el compuesto del título (63,0 mg, 98%) como un sólido blanco.

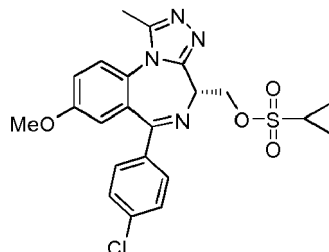
<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,55 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,41 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,36 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,23 (dd, *J* = 9,0, 3,0 Hz, 1H), 6,89 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H), 5,27 (ABX, *J*<sub>AB</sub> = 10,3 Hz, *J*<sub>BX</sub> = 6,4 Hz, 1H), 5,18 (ABX, *J*<sub>AB</sub> = 10,3 Hz, *J*<sub>AX</sub> = 7,6 Hz, 1H), 4,46 (t, *J* = 6,6 Hz, 1H), 3,82 (s, 3H), 3,27 (t, *J* = 7,8 Hz, 2H), 2,63 (s, 3H), 2,15-1,93 (m, 2H), 1,12 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H).

45

CL-EM m/z 475,1 [M+H]<sup>+</sup>, Tr = 3,13 min.

**Ejemplo 4: preparación de ciclopropanosulfonato de (R)-(6-(4-clorofenil)-8-metoxi-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-4-il)metilo (compuesto 4)**

5



Compuesto 4

A una disolución de (R)-4-(((*tert*-butildimetilsilil)oxi)metil)-6-(4-clorofenil)-8-metoxi-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepina (producto intermedio 15, 60,0 mg, 0,163 mmol) en THF (0,81 ml) se le añadió bis(trimetilsilil)amida de litio (LHMDS) (1,6 M en THF, 0,122 ml, 0,195 mmol) seguido por cloruro de ciclopropanosulfonilo (0,249 ml, 0,244 mmol) a -78°C. Se dejó calentar la mezcla de reacción hasta temperatura ambiente y se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Después de extinguirse con NH<sub>4</sub>Cl ac. saturado, se diluyó la mezcla con DCM, se lavó con HCl ac. 2 N y NaHCO<sub>3</sub> ac. saturado, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró a vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna sobre SiO<sub>2</sub> (EtOAc:MeOH = 10:1) para obtener el compuesto del título (33,0 mg, 43%) como un sólido amarillo.

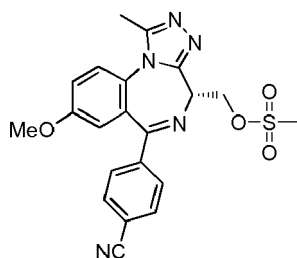
<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,56 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H), 7,41 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,36 (d, *J* = 7,6 Hz, 2H), 7,23 (dd, *J* = 9,0, 2,2 Hz, 1H), 6,89 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 5,32 (ABX, *J*<sub>AB</sub> = 10,2 Hz, *J*<sub>BX</sub> = 5,6 Hz, 1H), 5,23 (ABX, *J*<sub>AB</sub> = 10,2 Hz, *J*<sub>AX</sub> = 8,0 Hz, 1H), 4,46 (t, *J* = 6,4 Hz, 1H), 3,82 (s, 3H), 2,73-2,65 (m, 1H), 2,63 (s, 3H), 1,37-1,33 (m, 2H), 1,20-1,15 (m, 2H).

20

CL-EM m/z 473,2 [M+H]<sup>+</sup>, Tr = 3,31 min.

**Ejemplo 7: Preparación de metanosulfonato de (R)-(6-(4-cianofenil)-8-metoxi-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-4-il)metilo (compuesto 7)**

25



Compuesto 7

Se repitió el procedimiento según el ejemplo 1, excepto que se usó 1,4-dibromobenceno (4,19 g, 0,18 mmol) en lugar de bromuro de (4-clorofenil)magnesio para obtener el compuesto del título (23 mg, 47%).

30

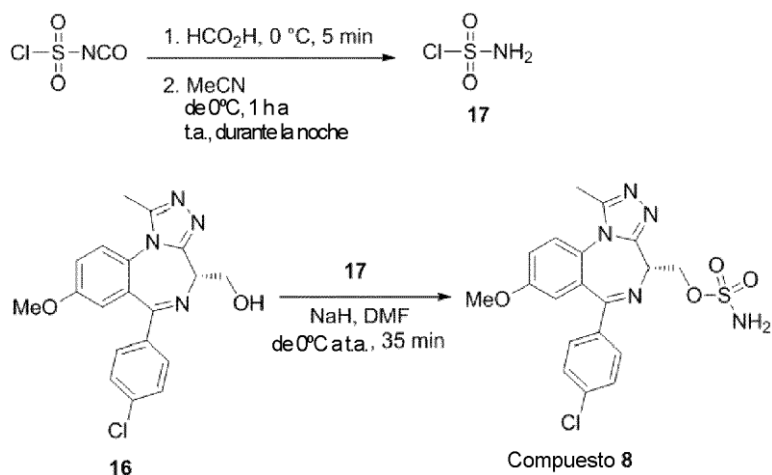
<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,73 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,69 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,45 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,28-7,25 (m, 1H), 6,84 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H), 5,31 (ABX, *J*<sub>AB</sub> = 10,4 Hz, *J*<sub>BX</sub> = 7,1 Hz, 1H), 5,20 (ABX, *J*<sub>AB</sub> = 10,4 Hz, *J*<sub>AX</sub> = 6,1 Hz, 1H), 4,51 (t, *J* = 6,8 Hz, 1H), 3,83 (s, 3H), 3,20 (s, 3H), 2,64 (s, 3H).

35

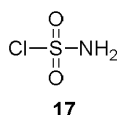
CL-EM m/z 438,2 [M+H]<sup>+</sup>, Tr = 2,89 min.

**Ejemplo 8: preparación de sulfamato de (R)-(6-(4-clorofenil)-8-metoxi-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-4-il)metilo (compuesto 8)**

40



Etapa 1: preparación de cloruro de sulfamoilo (disolución 2 M en CH<sub>3</sub>CN) (producto intermedio 17)



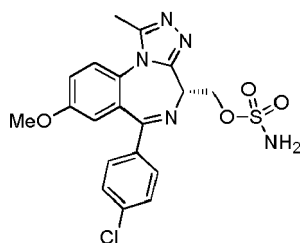
5

Se cargó un matraz de fondo redondo equipado con un barra de agitación y un septo de caucho con cloruro sulfurisocianatídico (200 mg, 1,41 mmol). Se enfrió el matraz hasta 0°C, y luego se añadió al mismo gota a gota HCO<sub>2</sub>H (288 µl, 7,50 mmol). Después de agitación vigorosa durante 5 min a 0°C, se añadió a la mezcla CH<sub>3</sub>CN (0,70 ml). Se agitó vigorosamente la mezcla a 0°C durante 1 hora, se calentó hasta temperatura ambiente durante la noche para obtener una disolución del compuesto del título en CH<sub>3</sub>CN (aproximadamente 2 M), que se usó para la siguiente reacción sin purificación adicional.

10

Etapa 2: preparación de sulfamato de ((R)-6-(4-clorofenil)-8-metoxi-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-4-il)metilo (compuesto 8)

15



Compuesto 8

A una disolución de ((R)-6-(4-clorofenil)-8-metoxi-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-4-il)metanol (producto intermedio 16, 50,0 mg, 0,136 mmol) en DMF (0,70 ml) se le añadió NaH (55% en peso, 8,87 mg, 0,203 mmol) seguido por cloruro de sulfamoilo (disolución 2 M en CH<sub>3</sub>CN, 0,203 ml, 0,406 mmol) a 0°C. Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 35 min y luego se diluyó con EtOAc. Se lavó la mezcla resultante con HCl ac. 2 N y NaHCO<sub>3</sub> ac. saturado, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró a vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna sobre SiO<sub>2</sub> (EtOAc:MeOH = 10:1) para obtener el compuesto del título (48,0 mg, 79%) como un sólido blanco.

20

25

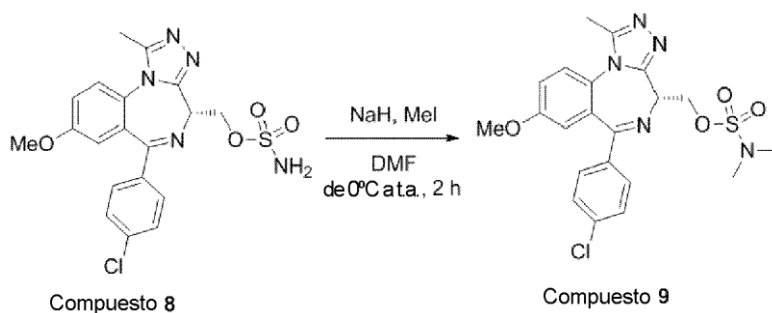
<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,54 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 7,42 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 7,36 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 7,24 (dd, J = 9,4, 2,6 Hz, 1H), 6,89 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 5,86 (s, 2H), 5,33 (dd, J = 18, 10 Hz, 1H), 5,04 (dd, J = 10,4, 5,6 Hz, 1H), 4,46 (t, J = 6,6 Hz, 1H), 3,82 (s, 3H), 2,63 (s, 3H).

30

CL-EM m/z 448,2 [M+H]<sup>+</sup>, Tr = 2,97 min.

**Ejemplo 9: preparación de dimetilsulfamato de ((R)-6-(4-clorofenil)-8-metoxi-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-4-il)metilo (compuesto 9)**

35

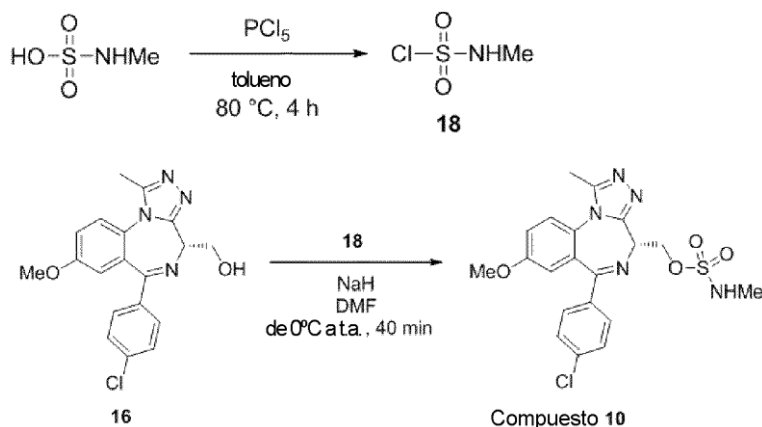


A una disolución de sulfamato de (*R*)-(6-(4-clorofenil)-8-metoxi-1-metil-4*H*-benzo[*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il)metilo (97,0 mg, 0,217 mmol) en DMF (0,11 ml) se le añadió NaH (55% en peso, 20,8 mg, 0,476 mmol) seguido por yoduro de metilo (MeI) (54,2  $\mu$ l, 0,866 mmol) a 0°C. Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 2 horas y se diluyó con EtOAc. Se lavó la mezcla resultante con HCl ac. 2 N y NaHCO<sub>3</sub> ac. saturado, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró a vacío. Se purificó el residuo mediante HPLC preparativa para obtener el compuesto del título (38,0 mg, 37%) como un sólido blanco.

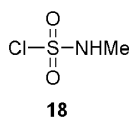
<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  7,55 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,41 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 7,36 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,23 (dd, *J* = 9,0, 3,0 Hz, 1H), 6,89 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H), 5,23 (ABX, *J*<sub>AB</sub> = 10,3 Hz, *J*<sub>BX</sub> = 5,9 Hz, 1H), 5,12 (ABX, *J*<sub>AB</sub> = 10,3 Hz, *J*<sub>AX</sub> = 7,7 Hz, 1H), 4,47 (t, *J* = 6,8 Hz, 1H), 3,82 (s, 3H), 3,01 (s, 6H), 2,63 (s, 3H).

CL-EM *m/z* 476,2 [M+H]<sup>+</sup>, Tr = 2,92 min.

**Ejemplo 10: preparación de metilsulfamato de (*R*)-(6-(4-clorofenil)-8-metoxi-1-metil-4*H*-benzo[*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il)metilo (compuesto 10)**



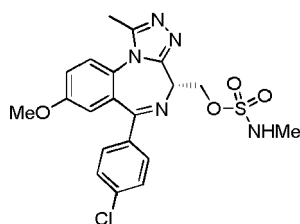
Etapa 1: preparación de cloruro de metilsulfamoilo (producto intermedio 18)



A una disolución de ácido metilsulfámico (100 mg, 0,900 mmol) en tolueno (1,0 ml) se le añadió PCl<sub>5</sub> (187 mg, 0,900 mmol) bajo una atmósfera de nitrógeno. Se calentó lentamente la mezcla de reacción hasta 80°C y se agitó durante 4 horas. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, se concentró a vacío la mezcla de reacción para obtener el compuesto del título (99,0 mg, 85%), que se usó para la siguiente reacción sin purificación adicional.

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  13,8 (s a, 1H), 2,96 (s, 3H).

Etapa 2: preparación de metilsulfamato de (*R*)-(6-(4-clorofenil)-8-metoxi-1-metil-4*H*-benzo[*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-4-il)metilo (compuesto 10)



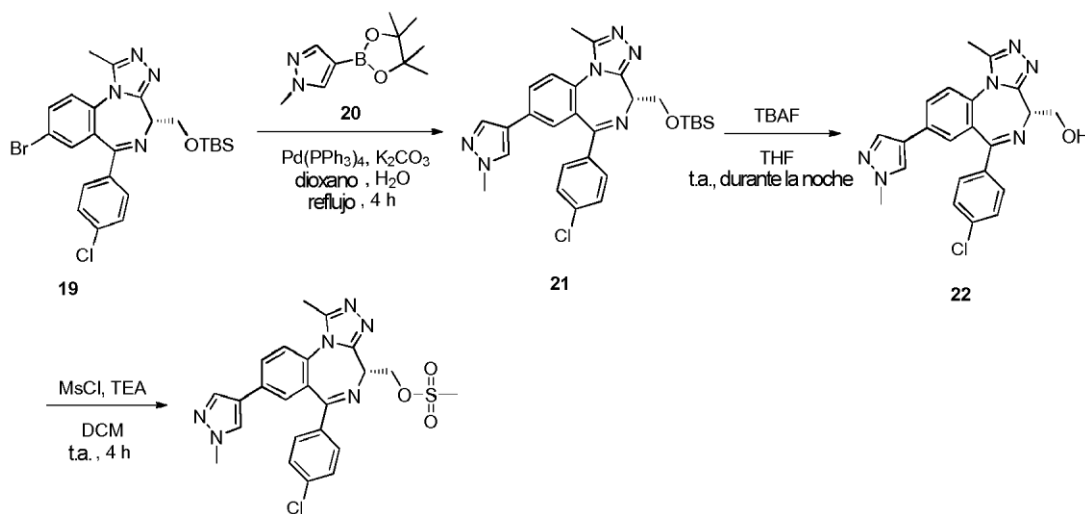
Compuesto 10

A una disolución de (*R*)-6-(4-clorofenil)-8-metoxi-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-4-il)metanol (50,0 mg, 0,136 mmol) en DMF (0,70 ml) se le añadieron NaH (55% en peso, 8,87 mg, 0,203 mmol) seguido por cloruro de metilsulfamoilo (52,7 mg, 0,407 mmol) a 0°C. Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 40 min y se diluyó con EtOAc. Se lavó la mezcla resultante con HCl ac. 2 N y NaHCO<sub>3</sub> ac. saturado, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró a vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna sobre SiO<sub>2</sub> (EtOAc:MeOH = 10:1) para obtener el compuesto del título (45,0 mg, 72%) como un sólido blanco.

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,54 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,41 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,36 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,23 (dd, *J* = 8,8, 2,8 Hz, 1H), 6,89 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H), 5,23 (s, 1H), 5,25 (ABX, *J*<sub>AB</sub> = 10,2 Hz, *J*<sub>BX</sub> = 6,2 Hz, 1H), 5,05 (ABX, *J*<sub>AB</sub> = 10,2 Hz, *J*<sub>AX</sub> = 7,0 Hz, 1H), 4,46 (t, *J* = 6,8 Hz, 1H), 2,90 (d, *J* = 5,2 Hz, 3H), 3,83 (s, 3H), 2,63 (s, 3H).

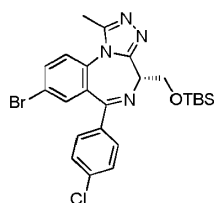
CL-EM *m/z* 462,2 [M+H]<sup>+</sup>, Tr = 2,95 min.

**Ejemplo 11: preparación de metanosulfonato de (*R*)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-4-il)metilo (compuesto 11)**



Compuesto 11

Etapa 1: preparación de (*R*)-8-bromo-4-(((*tert*-butildimetilsilil)oxi)metil)-6-(4-clorofenil)-1-metil-4H-benzof[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepina (producto intermedio 19)



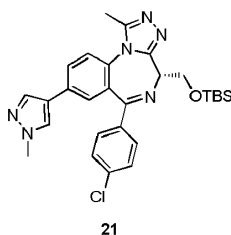
19

Se sintetizó (*Z*)-*N'*-((*R,Z*)-7-bromo-3-(((*tert*-butildimetilsilil)oxi)metil)-5-(4-clorofenil)-1*H*-benzo[e][1,4]diazepin-2(3*H*)-iliden)acetohidrazida de manera similar, empleando ácido 2-amino-5-bromobenzoico (2 g, 9,26 mmol) como material de partida. A una disolución de (*Z*)-*N'*-((*R,Z*)-7-bromo-3-(((*tert*-butildimetilsilil)oxi)metil)-5-(4-clorofenil)-1*H*-benzo[e][1,4]diazepin-2(3*H*)-iliden)acetohidrazida (115 mg, 0,209 mmol) en THF (30 ml) se le añadió ácido acético (395 μl, 6,90 mmol) a temperatura ambiente. Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante la noche. Después de la concentración a vacío de la mezcla resultante, se diluyó el residuo con EtOAc, se lavó con

NaHCO<sub>3</sub> ac. saturado, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró a vacío para obtener el compuesto del título (105 mg, 94% para 2 etapas) como un aceite amarillo viscoso.

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,81 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,59 (s, 1H), 7,51 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,37 (d, *J* = 9,2 Hz, 2H), 7,35 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 4,70 (d, *J* = 6,4 Hz, 2H), 4,15 (t, *J* = 6,2 Hz, 1H), 2,62 (s, 3H), 0,95(s, 9H), 0,20 (s, 3H), 0,17 (s, 3H).

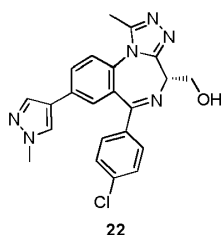
Etapa 2: preparación de (R)-4-(((terc-butildimetilsilil)oxi)metil)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo-[4,3-a][1,4]diazepina (producto intermedio 21)



Se evacuó un matraz de fondo redondo seco cargado con (R)-8-bromo-4-(((terc-butildimetilsilil)oxi)metil)-6-(4-clorofenil)-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepina (110 mg, 0,207 mmol), 1-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol (52,0 mg, 0,248 mmol), dioxano (8,0 ml) y agua (4,0 ml) y se rellenó con nitrógeno varias veces. Después de la adición de Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (24,0 mg, 0,021 mmol) y K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (57,2 mg, 0,414 mmol) a temperatura ambiente, se sometió a reflujo la mezcla de reacción durante 4 horas. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, se trató la mezcla de reacción con agua (5,0 ml) y luego se filtró a través de un lecho de Celite. Se repartió el filtrado entre NaHCO<sub>3</sub> ac. saturado (5,0 ml) y DCM (10 ml). Se extrajo la fase acuosa separada con DCM, y se lavaron las fases orgánicas combinadas con salmuera, se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron y se concentraron a vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna sobre SiO<sub>2</sub> (EtOAc:MeOH = 10:1) para obtener el compuesto del título (65,0 mg, 59%) como un sólido amarillo.

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,75 (dd, *J* = 8,4, 1,6 Hz, 1H), 7,73 (s, 1H), 7,60 (s, 1H), 7,57 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,47 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H), 7,45 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,35 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 4,72 (d, *J* = 6,8 Hz, 2H), 4,21 (t, *J* = 6,4 Hz, 1H), 3,95 (s, 3H), 2,65 (s, 3H), 0,95 (s, 9H).

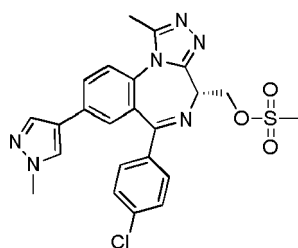
Etapa 3: preparación de (R)-(6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-4-il)metanol (producto intermedio 22)



A una disolución de (R)-4-(((terc-butildimetilsilil)oxi)metil)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepina (65,0 mg, 0,122 mmol) en THF (1,0 ml) se le añadió TBAF (244 μl, 0,244 mmol, disolución 1 M en THF) a temperatura ambiente. Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante la noche y se extinguió con NH<sub>4</sub>Cl ac. saturado. Se extrajo la mezcla con EtOAc dos veces. Se lavaron las fases orgánicas combinadas con salmuera, se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron y se concentraron a vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna sobre SiO<sub>2</sub> (EtOAc solo hasta EtOAc:MeOH = 8:1 hasta 4:1) para obtener el compuesto del título (23,0 mg, 45%) como un sólido amarillo.

CL/EM m/z 419,12 [M+H]<sup>+</sup>, Tr = 0,24 min.

Etapa 4: preparación de metanosulfonato de (R)-(6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-4-il)metilo (compuesto 11)



Compuesto 11

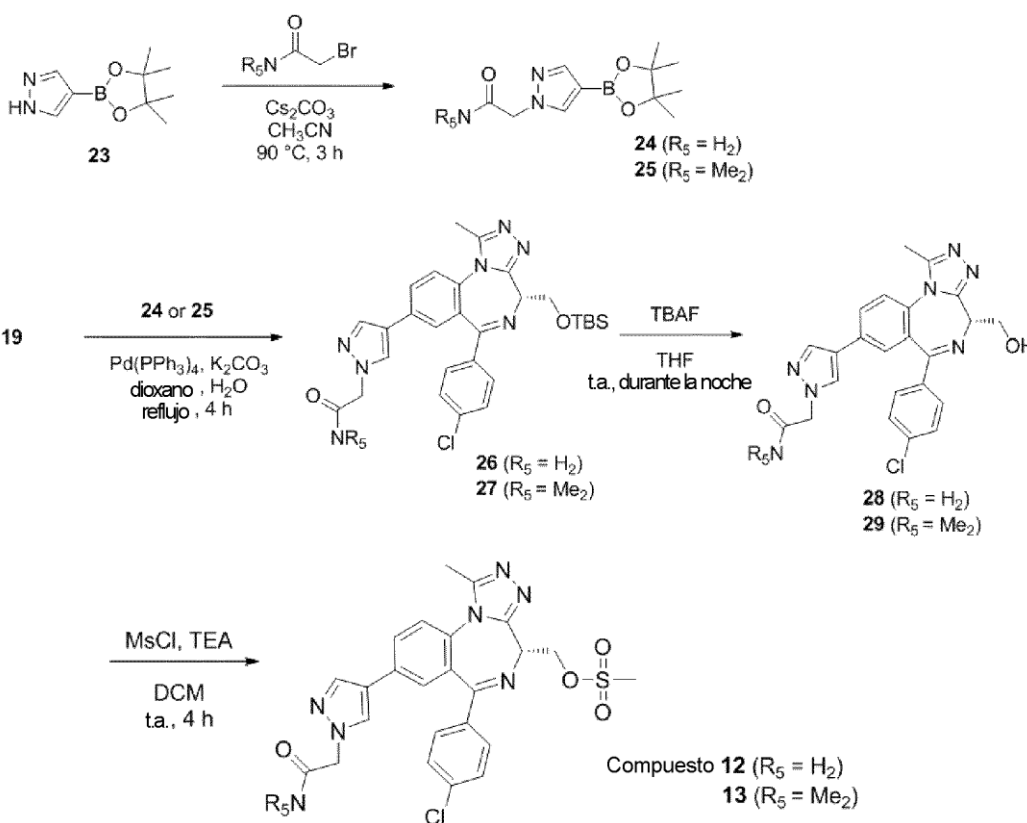
5 A una disolución de (*R*)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-4-il)metanol (23,0 mg, 0,055 mmol) en DCM (0,50 ml) se le añadió MsCl (8,56  $\mu$ l, 0,115 mmol) seguido por TEA (19,1  $\mu$ l, 0,137 mmol) a 0°C. Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 4 horas. Después de diluirse con DCM, se lavó la mezcla resultante con HCl ac. 2 N y NaHCO<sub>3</sub> ac. saturado, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró a vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna sobre SiO<sub>2</sub> (EtOAc:MeOH = 10:1) para obtener el compuesto del título (14,0 mg, 52%) como un sólido amarillo.

10 <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  7,78 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,73 (s, 1H), 7,60 (s, 1H), 7,56 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H), 7,47 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,46 (s, 1H), 7,37 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H), 5,31 (ABX, *J*<sub>AB</sub> = 10,4 Hz, *J*<sub>BX</sub> = 7,0 Hz, 1H), 5,18 (ABX, *J*<sub>AB</sub> = 10,4 Hz, *J*<sub>AX</sub> = 6,6 Hz, 1H), 4,50 (t, *J* = 6,6 Hz, 1H), 3,95 (s, 3H), 3,20 (s, 3H), 2,67(s, 3H).

CL-EM m/z 497,3 [M+H]<sup>+</sup> Tr = 3,06 min.

15

**Ejemplos 12 y 13**

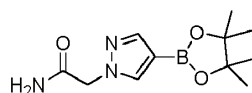


20 **Ejemplo 12: preparación de metanosulfonato de (*R*)-8-(1-(2-amino-2-oxoetil)-1H-pirazol-4-il)-6-(4-clorofenil)-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-4-il)metilo (Compuesto 12)**

Etapas 1: preparación de 2-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol-1-il)acetamida (Producto intermedio 24)

25



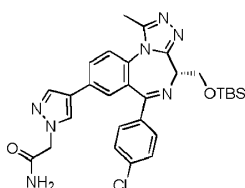


24

Se agitó una mezcla de 4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol (200 mg, 1,03 mmol), 2-bromoacetamida (213 mg, 1,54 mmol) y  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  (1,27 g, 3,92 mmol) en  $\text{CH}_3\text{CN}$  (5,0 ml) a  $90^\circ\text{C}$  durante 3 horas. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, se diluyó la mezcla de reacción con agua y se extrajo con EtOAc dos veces. Se secaron las fases orgánicas combinadas sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtraron y se concentraron a vacío para obtener el compuesto del título (174 mg, 67%) como un sólido blanco, que se usó para la siguiente reacción sin purificación adicional.

$^1\text{H}$ -RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,89 (s, 1H), 7,76 (s, 1H), 6,21 y 5,41 (s a, 2H), 4,83 (s, 2H), 1,32 (s, 12H).

Etapa 2: preparación de (R)-2-(4-(4-(((*tert*-butildimetilsilil)oxi)metil)-6-(4-clorofenil)-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-8-il)-1H-pirazol-1-il)acetamida (Producto intermedio 26)

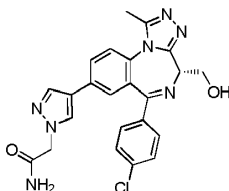


26

Se evacuó un matraz de fondo redondo seco cargado con (R)-8-bromo-4-(((*tert*-butildimetilsilil)oxi)metil)-6-(4-clorofenil)-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepina (300 mg, 0,564 mmol), 2-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol-1-il)acetamida (142 mg, 0,564 mmol), dioxano (2,0 ml) y agua (1,0 ml) y se rellenó con nitrógeno varias veces. Después de la adición de  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$  (65,2 mg, 0,056 mmol) y  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (156 mg, 1,13 mmol) a la mezcla a temperatura ambiente, se sometió a reflujo la mezcla de reacción durante 4 horas. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, se trató la mezcla de reacción con agua (5,0 ml) y luego se filtró a través de un lecho de Celite. Se repartió el filtrado entre  $\text{NaHCO}_3$  ac. saturado (5,0 ml) y DCM (10 ml). Se extrajo la fase acuosa separada con DCM y se lavaron las fases orgánicas con salmuera, se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtraron y se concentraron a vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna sobre  $\text{SiO}_2$  (EtOAc/MeOH = 10:1) para obtener el compuesto del título (194 mg, 60%) como un sólido amarillo.

$^1\text{H}$ -RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,85 (s, 1H), 7,75 (dd,  $J = 8,0, 2,0$  Hz, 1H), 7,73 (s, 1H), 7,55 (d,  $J = 8,8$  Hz, 2H), 7,49-7,44 (m, 2H), 7,35 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 4,83 (s, 2H), 4,71 (d,  $J = 6,8$  Hz, 2H), 4,18 (t,  $J = 6,4$  Hz, 1H), 3,73 (s, 2H), 2,64 (s, 3H), 0,94 (s, 9H), 0,20 (s, 3H), 0,16 (s, 3H).

Etapa 3: preparación de (R)-2-(4-(6-(4-clorofenil)-4-(hidroximetil)-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-8-il)-1H-pirazol-1-il)acetamida (Producto intermedio 28)

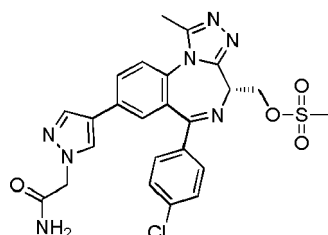


28

A una disolución de (R)-2-(4-(4-(((*tert*-butildimetilsilil)oxi)metil)-6-(4-clorofenil)-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-8-il)-1H-pirazol-1-il)acetamida (194 mg, 0,337 mmol) en THF (2,0 ml) se le añadió TBAF (673  $\mu\text{l}$ , 0,673 mmol, disolución 1 M en THF) a temperatura ambiente. Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante la noche y se extinguió con  $\text{NH}_4\text{Cl}$  ac. saturado. Se extrajo la mezcla con EtOAc dos veces. Se lavaron las fases orgánicas combinadas con salmuera, se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtraron y se concentraron a vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna sobre  $\text{SiO}_2$  (EtOAc solo hasta EtOAc:MeOH = 10:1) para obtener el compuesto del título (73,0 mg, 47%) como un sólido amarillo.

CL/EM  $m/z$  462,32  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , T.r. = 0,20 min.

Etapa 4: preparación de metanosulfonato de (R)-(8-(1-(2-amino-2-oxoetil)-1H-pirazol-4-il)-6-(4-clorofenil)-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-4-il)metilo (Compuesto 12)



Compuesto 12

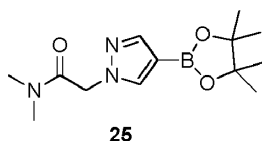
5 A una disolución de (*R*)-2-(4-(6-(4-clorofenil)-4-(hidroximetil)-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-8-il)-1H-pirazol-1-il)acetamida (73,0 mg, 0,158 mmol) en DCM (0,80 ml) se le añadió MsCl (24,6  $\mu$ l, 0,316 mmol) seguido por TEA (55,1  $\mu$ l, 0,395 mmol) a 0°C. Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 12 horas y se diluyó con DCM. Se lavó la mezcla resultante con HCl ac. 2 N y NaHCO<sub>3</sub> ac. saturado, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró a vacío. Se purificó el residuo mediante HPLC preparativa para obtener el compuesto del título (36,0 mg, 43%) como un sólido blanco.

10 <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  7,82 (s, 1H), 7,79 (dd, *J* = 8,6, 1,8 Hz, 1H), 7,75 (s, 1H), 7,53 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,49 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H), 7,35 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 6,32 y 5,78 (s a, 2H), 5,29 (ABX, *J*<sub>AB</sub> = 10,5 Hz, *J*<sub>BX</sub> = 6,1 Hz, 1H), 5,16 (ABX, *J*<sub>AB</sub> = 10,5 Hz, *J*<sub>AX</sub> = 6,7 Hz, 1H), 4,83 (s, 2H), 4,47 (t, *J* = 6,6 Hz, 1H), 3,18 (s, 3H), 2,65 (s, 3H).

15 CL-EM m/z 540,3 [M+H]<sup>+</sup> T.r. = 2,83 min.

**Ejemplo 13: preparación de metanosulfonato de (*R*)-6-(4-clorofenil)-8-(1-(2-(dimetilamino)-2-oxoetil)-1H-pirazol-4-il)-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-4-il)metilo (Compuesto 13)**

20 Etapa 1: preparación de N,N-dimetil-2-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol-1-il)acetamida (Producto intermedio 25)



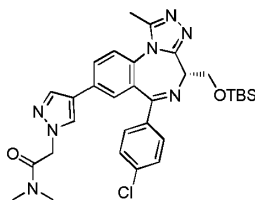
25

25 Se agitó una mezcla de 4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol (100 mg, 0,515 mmol), 2-cloro-N,N-dimetilacetamida (58,3  $\mu$ l, 0,567 mmol) y Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (252 mg, 0,773 mmol) en DMF (3,0 ml) a 90°C durante 3 horas. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, se trató la mezcla de reacción con agua y se extrajo con EtOAc dos veces. Se secaron las fases orgánicas combinadas sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron y se concentraron a vacío para obtener el compuesto del título (106 mg, 74%) como un sólido blanco, que se usó para la siguiente reacción sin purificación adicional.

30

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  7,81 (d, *J* = 5,6 Hz, 2H), 4,99 (s, 2H), 3,07 (s, 3H), 2,98 (s, 3H), 1,31 (s, 12H).

35 Etapa 2: preparación de (*R*)-2-(4-(4-(((*tert*-butildimetilsilil)oxi)metil)-6-(4-clorofenil)-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-8-il)-1H-pirazol-1-il)-N,N-dimetilacetamida (Producto intermedio 27)

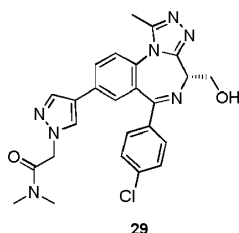


27

40 Se repitió el procedimiento según la etapa 2 en el ejemplo 12 excepto que se usó el producto intermedio 25 en lugar del producto intermedio 24 para obtener el compuesto del título (66,0 mg, 45%) como un sólido amarillo.

CL/EM m/z 604,48 [M+H]<sup>+</sup>, T.r. = 0,28 min.

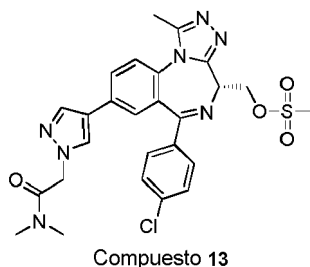
45 Etapa 3: preparación de (*R*)-2-(4-(6-(4-clorofenil)-4-(hidroximetil)-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-8-il)-1H-pirazol-1-il)-N,N-dimetilacetamida (Producto intermedio 29)



5 Se repitió el procedimiento según la etapa 3 en el ejemplo 12 excepto que se usó el producto intermedio 27 en lugar del producto intermedio 26 para obtener el compuesto del título (35 mg, 72%) como un sólido amarillo.

CL/EM m/z 490,3 [M+H]<sup>+</sup>, T.r. = 0,31 min.

10 Etapa 4: preparación de metanosulfonato de (R)-6-(4-clorofenil)-8-(1-(2-(dimetilamino)-2-oxoetil)-1H-pirazol-4-il)-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-4-il)metilo (Compuesto 13)

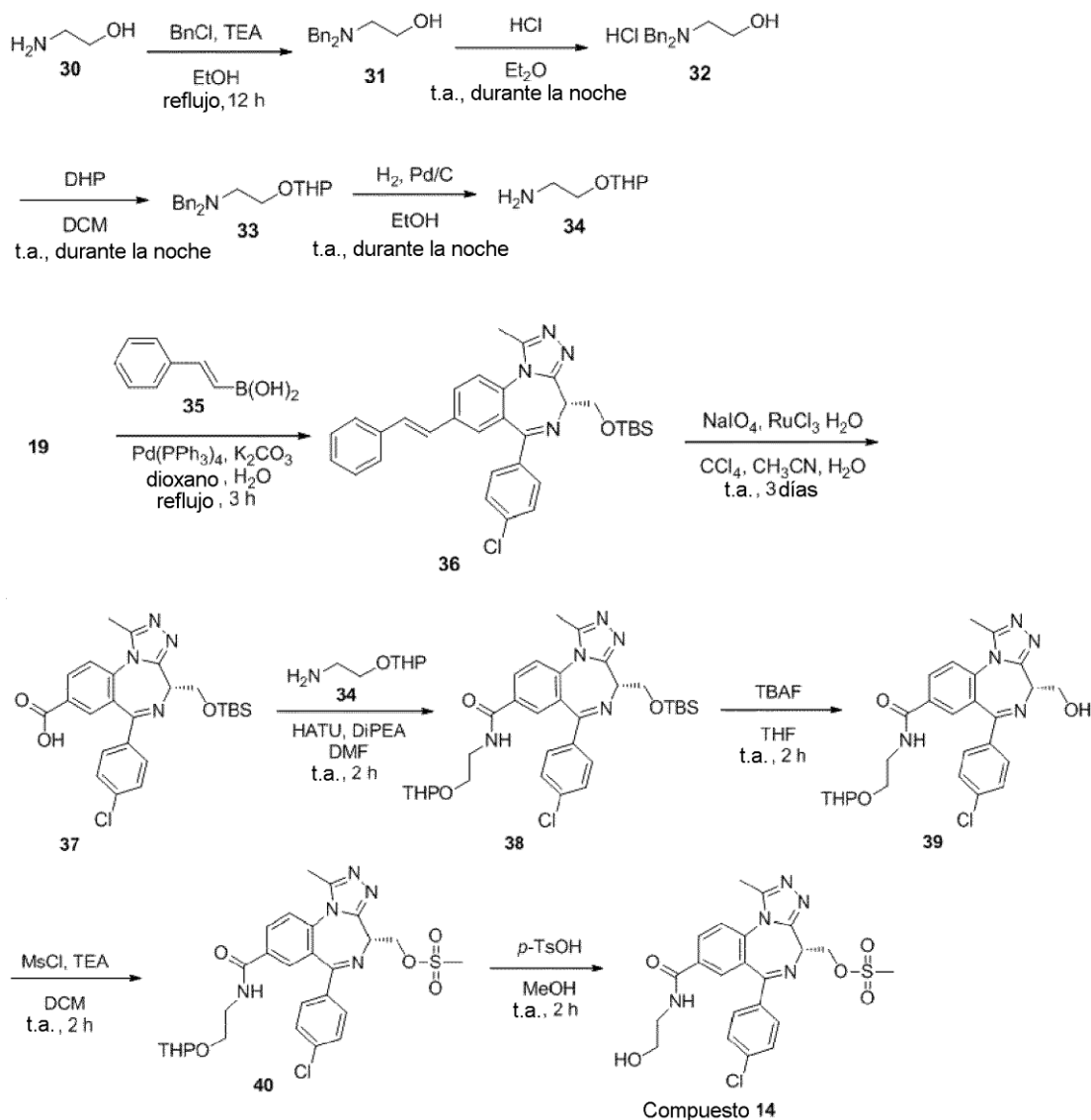


15 A una disolución de (R)-2-(4-(6-(4-clorofenil)-4-(hidroximetil)-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-8-il)-1H-pirazol-1-il)-N,N-dimetilacetamida (15,0 mg, 0,031 mmol) en DCM (0,5 ml) se le añadió MsCl (4,77 μl, 0,061 mmol) seguido por TEA (10,7 μl, 0,077 mmol) a 0°C. Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 3 días y se diluyó con DCM. Se lavó la mezcla resultante con HCl ac. 2 N y NaHCO<sub>3</sub> ac. saturado, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró a vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna sobre SiO<sub>2</sub> (EtOAc:MeOH = 10:1) para obtener el compuesto del título (11,9 mg, 68%) como un sólido amarillo.

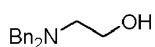
20 <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,82-7,76 (m, 3H), 7,55 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,50 (d, J = 3,6 Hz, 1H), 7,48 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,37 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 5,32 (ABX, J<sub>AB</sub> = 10,2 Hz, J<sub>BX</sub> = 6,8 Hz, 1H), 5,18 (ABX, J<sub>AB</sub> = 10,2 Hz, J<sub>AX</sub> = 7,2 Hz, 1H), 5,02 (s, 2H), 4,49 (t, J = 6,8 Hz, 1H), 3,21 (s, 3H), 3,12 (s, 3H), 3,01 (s, 3H), 2,67 (s, 3H).

25 CL-EM m/z 568,3 [M+H]<sup>+</sup> T.r. = 2,71 min.

**Ejemplo 14: preparación de metanosulfonato de (R)-6-(4-clorofenil)-8-((2-hidroxietil)carbamoil)-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-4-il)metilo (Compuesto 14)**



Etapa 1: preparación de 2-(dibencilamino)etanol (Producto intermedio 31)



**31**

5

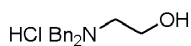
A una disolución de 2-aminoetanol (500 mg, 8,19 mmol) y TEA (2,74 ml, 19,7 mmol) en EtOH (11 ml) se le añadió cloruro de bencilo (1,90 ml, 16,4 mmol) en EtOH (2,0 ml) a temperatura ambiente. Se sometió a refluxo la mezcla de reacción durante 12 horas. Después de la evaporación de volátiles, se diluyó el residuo con dietil éter. Se extrajo la mezcla con diluido con dietil éter y se extrajo con HCl ac. 2 N. Se neutralizó la fase acuosa separada con Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> y se extrajo con dietil éter. Se secó la fase orgánica separada sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró a vacío para obtener el compuesto del título (980 mg, 50%), que se usó para la siguiente reacción sin purificación adicional.

10

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,36-7,15 (m, 10H), 3,63 (s, 4H), 3,58 (t, J = 5,2 Hz, 2H), 2,67 (t, J = 5,2 Hz, 2H) \* El pico del OH no se observó.

15

Etapa 2: preparación de clorhidrato de 2-(dibencilamino)etanol (Producto intermedio 32)



**32**

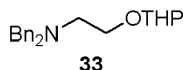
20

A una disolución de 2-(dibencilamino)etanol (980 mg, 4,06 mmol) en dietil éter (1,0 ml) se le añadió HCl (disolución 2 M en éter, 2,0 ml) a 0°C. Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante la noche y luego se

concentró a vacío para obtener el compuesto del título (980 mg, 87%) como un sólido blanco, que se usó para la siguiente reacción sin purificación adicional.

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, D<sub>2</sub>O): δ 7,40-7,21 (m, 10H), 4,27 (s, 4H), 3,72 (t, *J* = 5,0 Hz, 2H), 3,13 (t, *J* = 5,0 Hz, 2H) \* Los picos de 2HCl y OH no se observaron.

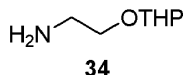
Etapa 3: preparación de N,N-dibencil-2-(tetrahidro-2H-piran-2-iloxi)etanamina (Producto intermedio 33)



A una disolución de clorhidrato de 2-(dibencilamino)etanol (980 mg, 3,55 mmol) en DCM (5,0 ml) se le añadió gota a gota 3,4-dihidro-2H-pirán (DHP)(485 μl, 5,32 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante la noche y luego se vertió en Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ac. saturado. Se extrajo la fase acuosa con DCM, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró a vacío para obtener el compuesto del título (1,00 g, 87%), que se usó en la siguiente etapa sin purificación.

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,58-7,12 (m, 10H), 4,57 (s, 1H), 3,94-3,79 (m, 2H), 3,67 (s a, 4H), 3,58-3,43 (m, 2H), 2,71 (s a, 2H), 1,64-1,42 (m, 6H).

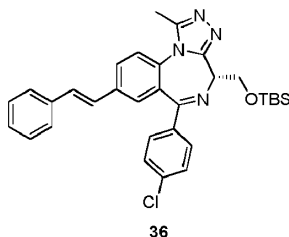
Etapa 4: preparación de 2-(tetrahidro-2H-pirán-2-iloxi)etanamina (Producto intermedio 34)



Se agitó una suspensión de N,N-dibencil-2-(tetrahidro-2H-pirán-2-iloxi)etanamina (1,00 g, 3,07 mmol) y Pd/C (5% en peso, 327 mg, 0,154 mmol) en EtOH (15 ml) a temperatura ambiente durante la noche en una atmósfera de hidrógeno (globo). Después de la filtración a través de un lecho de Celite, se concentró a vacío el filtrado para dar el compuesto del título (430 mg, 96%) como un aceite incoloro, que se usó para la siguiente etapa sin purificación adicional.

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 4,60 (s a, 1H), 3,93-3,84 (m, 1H), 3,83-3,76 (m, 1H), 3,56-3,44 (m, 2H), 2,92 (t, *J* = 5,2 Hz, 2H), 2,29 (s a, 2H), 1,65-1,46 (m, 6H).

Etapa 5: preparación de (R,E)-4-(((*tert*-butildimetilsilil)oxi)metil)-6-(4-clorofenil)-metil-8-estiril-4H-benzof[*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepina (Producto intermedio 36)

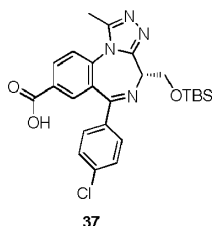


Se evacuó un matraz de fondo redondo seco cargado con (*R*)-8-bromo-4-(((*tert*-butildimetilsilil)oxi)metil)-6-(4-clorofenil)-1-metil-4H-benzof[*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepina (producto intermedio 19, 460 mg, 0,865 mmol), ácido (*E*)-estirilborónico (256 mg, 1,73 mmol), dioxano (3,0 ml) y agua (1,5 ml) y se rellenó con nitrógeno varias veces. Después de la adición de Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (100 mg, 0,0860 mmol) y K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (239 mg, 1,73 mmol) a la mezcla, se sometió a reflujo la mezcla de reacción durante 3 horas. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, se trató la mezcla de reacción con agua (5,0 ml) y luego se filtró a través de un lecho de Celite. Se repartió el filtrado entre NaHCO<sub>3</sub> ac. saturado (5,0 ml) y DCM (10 ml). Se extrajo la fase acuosa separada con DCM, y se lavaron las fases orgánicas con salmuera, se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron y se concentraron a vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna sobre SiO<sub>2</sub> (EtOAc:MeOH = 10:1) para obtener el compuesto del título (389 mg, 81%) como un sólido marrón.

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,82 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,57 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,53-7,48 (m, 3H), 7,45 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,41-7,34 (m, 4H), 7,32 (d, *J* = 6,8 Hz, 1H), 7,09 (d, *J* = 7,6 Hz, 2H), 4,72 (d, *J* = 6,8 Hz, 2H), 4,20 (t, *J* = 6,6 Hz, 1H), 0,95 (s, 9H), 2,66 (s, 3H), 0,21 (s, 3H), 0,18 (s, 3H).

Etapa 6: preparación de ácido (*R*)-4-(((*tert*-butildimetilsilil)oxi)metil)-6-(4-clorofenil)-1-metil-4H-benzof[*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-8-carboxílico (Producto intermedio 37)

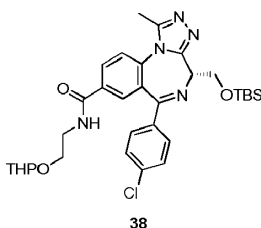
55



A una disolución de (*R,E*)-4-(((*tert*-butildimetilsilil)oxi)metil)-6-(4-clorofenil)-1-metil-8-estiril-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepina (310 mg, 0,558 mmol) en CCl<sub>4</sub> (0,80 ml), CH<sub>3</sub>CN (0,80 ml) y agua (1,2 ml) se le añadió NaIO<sub>4</sub> (478 mg, 2,23 mmol) y cloruro de rutenio (III) (3,94 mg, 0,0150 mmol) a temperatura ambiente. Se agitó la mezcla de reacción durante 3 días a temperatura ambiente. Se extrajo la mezcla de reacción con DCM dos veces, y se lavaron las fases orgánicas separadas con salmuera, se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron y se concentraron a vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna sobre SiO<sub>2</sub> (EtOAc:MeOH = 5:1) para obtener el compuesto del título (70,0 mg, 25%) como un sólido marrón.

<sup>1</sup>H-RMN(400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8,38 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 8,18 (s, 1H), 7,57 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,51 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H), 7,36 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 4,72 (d, *J* = 6,8 Hz, 2H), 4,17 (t, *J* = 6,4 Hz, 1H), 2,69 (s, 3H), 0,94 (s, 9H), 0,20 (s, 3H), 0,17 (s, 3H). \*El pico del COOH no se observó.

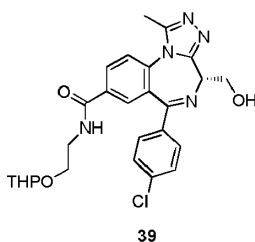
Etapa 7: preparación de (4*R*)-4-(((*tert*-butildimetilsilil)oxi)metil)-6-(4-clorofenil)-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-8-carboxilato de 2-((tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)etilo (Producto intermedio 38)



A una disolución de ácido (*R*)-4-(((*tert*-butildimetilsilil)oxi)metil)-6-(4-clorofenil)-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-8-carboxílico (70,0 mg, 0,141 mmol) en DMF (0,70 ml) se le añadió 2-(tetrahidro-2H-piran-2-iloxi)etanamina (30,7 mg, 0,211 mmol), (hexafluorofosfato de 3-óxido de 1-[bis(dimetilamino)metileno]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]piridinio) (HATU) (80,0 mg, 0,211 mmol) y *N,N*-diisopropiletilamina (DIPEA) (36,9 μl, 0,211 mmol) a temperatura ambiente. Se agitó la mezcla resultante durante 2 horas a temperatura ambiente. Después de la concentración a vacío de la mezcla, se diluyó el residuo con EtOAc, se lavó con agua y salmuera, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró a vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna sobre SiO<sub>2</sub> (Hex:EtOAc = 10:1) para obtener el compuesto del título (44,0 mg, 50%) como un sólido amarillo.

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8,16 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,84 (s, 1H), 7,55 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,51 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,35 (d, *J* = 7,6 Hz, 2H), 7,18 (d, *J* = 14,8 Hz, 1H), 4,71 (d, *J* = 7,2 Hz, 2H), 4,91 (s, 1H), 4,13 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H), 3,91-3,84 (m, 1H), 3,83-3,72 (m, 2H), 3,71-3,63 (m, 1H), 3,60-3,51 (m, 1H), 3,45-3,35 (m, 1H), 2,65 (s, 3H), 1,56-1,44 (m, 6H), 0,94 (s, 9H), 0,20 (s, 3H), 0,16 (s, 3H).

Etapa 8: preparación de (4*R*)-6-(4-clorofenil)-4-(hidroximetil)-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-8-carboxilato de 2-((tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)etilo (Producto intermedio 39)

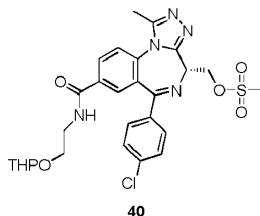


A una disolución de (4*R*)-4-(((*tert*-butildimetilsilil)oxi)metil)-6-(4-clorofenil)-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-8-carboxilato de 2-((tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)etilo (44,0 mg, 0,0700 mmol) en THF (0,35 ml) se le añadió TBAF (141 μl, 0,141 mmol, disolución 1 M en THF) a temperatura ambiente. Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 2 horas y se extinguió con NH<sub>4</sub>Cl ac. saturado. Se extrajo la mezcla con EtOAc dos veces. Se lavaron las fases orgánicas combinadas con salmuera, se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron y se concentraron a vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna sobre SiO<sub>2</sub> (EtOAc solo hasta

EtOAc:MeOH = 9:1) para obtener el compuesto del título (30,0 mg, 83%) como un sólido amarillo.

CL/EM m/z 510,23 [M+H]<sup>+</sup>, T.r. = 0,31 min

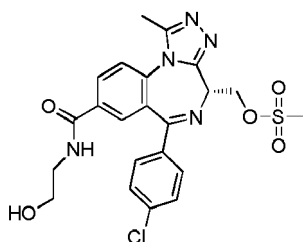
- 5 Etapa 9: preparación de (4R)-6-(4-clorofenil)-1-metil-4-(((metilsulfonyl)oxi)metil)-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-8-carboxilato de 2-((tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)etilo (Producto intermedio 40)



- 10 A una disolución de (4R)-6-(4-clorofenil)-4-(hidroximetil)-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-8-carboxilato de 2-((tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)etilo (30,0 mg, 0,0590 mmol) en DCM (0,30 ml) se le añadió MsCl (9,17 µl, 0,118 mmol) seguido por TEA (20,5 µl, 0,147 mmol) a 0°C. Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 2 horas y se diluyó con DCM. Se lavó la mezcla resultante con HCl ac. 2 N y NaHCO<sub>3</sub> ac. saturado, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró a vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna sobre SiO<sub>2</sub> (EtOAc solo hasta EtOAc:MeOH = 9:1) para obtener el compuesto del título (30,0 mg, 87%) como una espuma de color amarillo.

CL/EM m/z 588,2 [M+H]<sup>+</sup>, T.r. = 0,42 min.

- 20 Etapa 10: preparación de metanosulfonato de (R)-6-(4-clorofenil)-8-((2-hidroxietil)carbamoil)-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-4-il)metilo (Compuesto 14)



Compuesto 14

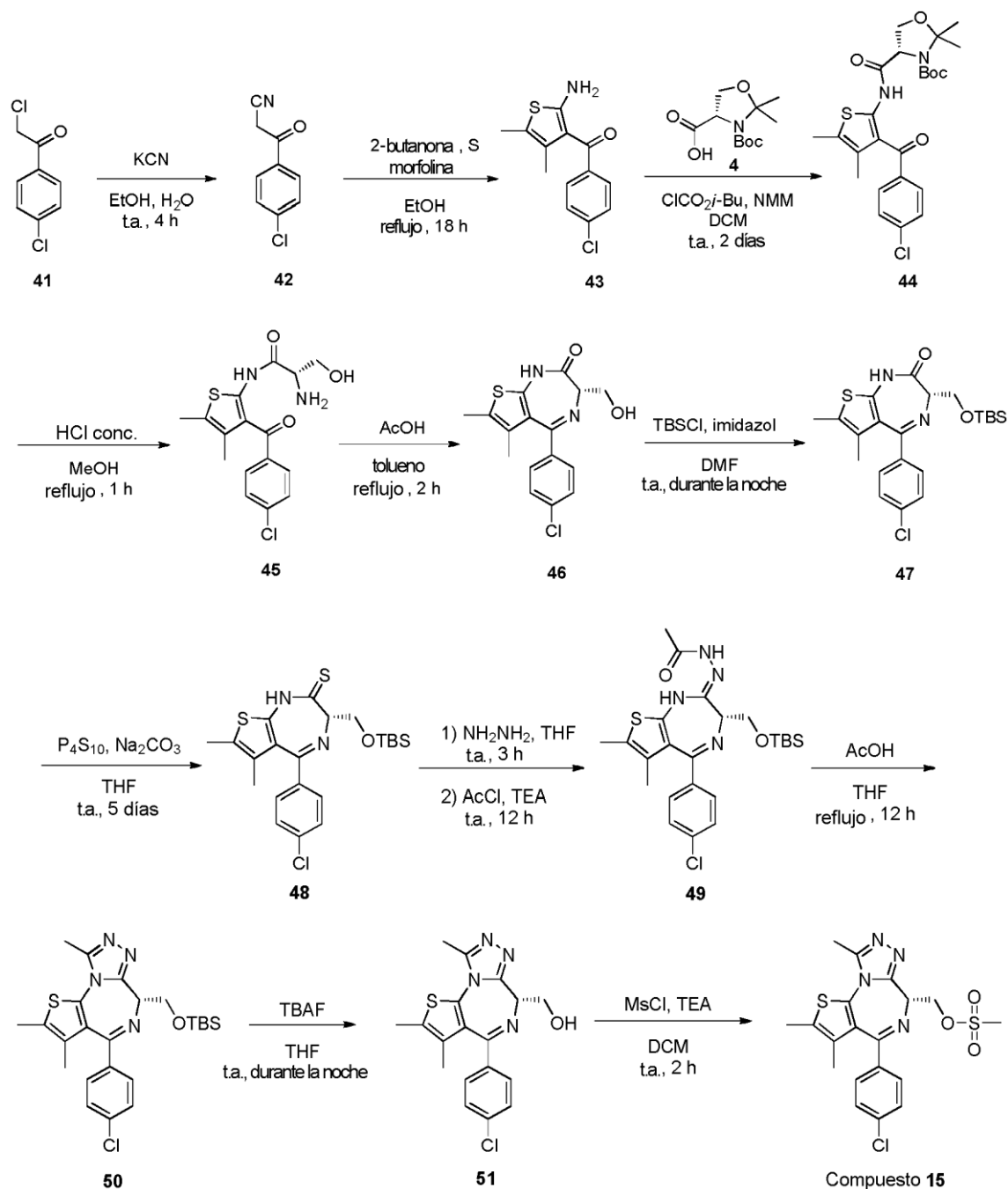
- 25 A una disolución de (4R)-6-(4-clorofenil)-1-metil-4-(((metilsulfonyl)oxi)metil)-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-8-carboxilato de 2-((tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)etilo (30,0 mg, 0,0510 mmol) en MeOH (0,26 ml) se le añadió ácido *p*-toluenosulfónico (*p*-TsOH) (0,97 mg, 5,10 µmol) a temperatura ambiente. Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 2 horas y se diluyó con DCM. Se lavó la mezcla resultante con NaHCO<sub>3</sub> ac. saturado, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró a vacío. Se purificó el residuo mediante HPLC preparativa para obtener el compuesto del título (5,8 mg, 23%) como una espuma de color amarillo.

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8,27 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,98 (s, 1H), 7,91 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,59 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,44 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H), 5,13 (d, *J* = 6,4 Hz, 2H), 4,58 (t, *J* = 6,4 Hz, 1H), 3,68 (t, *J* = 5,6 Hz, 2H), 3,48 (t, *J* = 5,4 Hz, 2H), 3,23 (s, 3H), 2,69 (s, 3H). \* Los picos de OH y NH no se observaron.

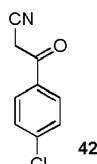
CL-EM m/z 504,1 [M+H]<sup>+</sup> T.r. = 3,03 min.

- Ejemplo 15: preparación de metanosulfonato de (R)-4-(4-clorofenil)-2,3,9-trimetil-6H-tieno[3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-6-il)metilo (Compuesto 15)**

40



Etapa 1: preparación de 3-(4-clorofenil)-3-oxopropanonitrilo (Producto intermedio 42)



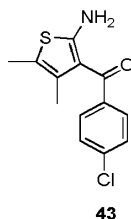
5

10

A una disolución de 2-cloro-1-(4-clorofenil)etanona (15,5 g, 66,4 mmol) en EtOH (101 ml) se le añadió una disolución de KCN (10,8 g, 166 mmol) en agua (10 ml). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 4 horas, luego se diluyó con agua y DCM. Se trató la mezcla con ácido acético (20 ml). Se lavó la fase orgánica separada con salmuera, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró a vacío para dar el compuesto del título (11,8 g, 99%) como un sólido amarillo.

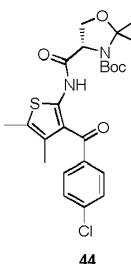
<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,88 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,52 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 4,06 (s, 2H).



Etapa 2: preparación de (2-amino-4,5-dimetiltiofen-3-il)(4-clorofenil)metanona (Producto intermedio 43)

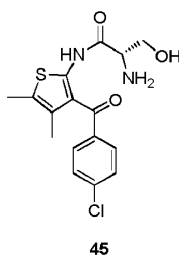
5 A una disolución de 3-(4-clorofenil)-3-oxopropanonitrilo (12,0 g, 66,8 mmol), 2-butanona (5,98 ml, 66,8 mmol) y morfolina (5,82 ml, 66,8 mmol) en EtOH (191 ml) se le añadió azufre (2,14 g, 66,8 mmol) a temperatura ambiente. Se sometió a reflujo la mezcla de reacción durante 18 horas, se enfrió hasta temperatura ambiente y se vertió en agua. Se extrajo la mezcla con EtOAc dos veces. Se secaron las fases orgánicas combinadas sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron y se concentraron a vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna sobre SiO<sub>2</sub> (Hex:EtOAc = 1:1) para obtener el compuesto del título (8,97 g, 51%) como un sólido amarillo.

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,47 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,38 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 6,43 (s, 2H), 2,14 (s, 3H), 1,56 (s, 3H).

Etapa 3: preparación de (S)-4-(3-(4-clorobenzoil)-4,5-dimetiltiofen-2-ilcarbamoil)-2,2-dimetiloxazolidin-3-carboxilato de *tert*-butilo (Producto intermedio 44)

20 A una disolución de ácido (S)-3-(*tert*-butoxicarbonil)-2,2-dimetiloxazolidin-4-carboxílico (producto intermedio 4, 0,886 g, 3,61 mmol) en DCM (9 ml) se le añadió N-metilmorfolina (NMM) (0,397 ml, 3,61 mmol) seguido por cloroformiato de isobutilo (0,474 ml, 3,61 mmol) a 0°C. Se agitó la mezcla durante 30 min a temperatura ambiente. Después de la adición de (2-amino-4,5-dimetiltiofen-3-il)(4-clorofenil)metanona (producto intermedio 43, 0,800 g, 3,01 mmol) a la mezcla, se agitó la mezcla de reacción durante 2 días a temperatura ambiente. Se diluyó la mezcla de reacción con DCM, se lavó con HCl ac. 2 N, NaHCO<sub>3</sub> ac. saturado y agua, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró a vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna sobre SiO<sub>2</sub> (Hex:EtOAc = de 5:1 a 3:1 a 1:1) para obtener el compuesto del título (1,80 g, 88%) como un aceite amarillo viscoso.

30 <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): (dos conjuntos de rotámetros) δ 11,4 (s, 1H), 7,53 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 7,41 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 4,65-4,13 (m, 3H), 2,26 (s, 3H), 1,84 y 1,79 (s y s, 3H), 1,68 (s, 3H), 1,57 y 1,56 (s y s, 4H), 1,47 (s, 3H), 1,29-1,24 (m, 5H).

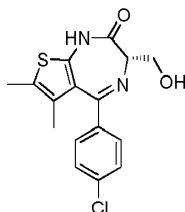
Etapa 4: preparación de (S)-2-amino-N-(3-(4-clorobenzoil)-4,5-dimetiltiofen-2-il)-3-hidroxiopropanamida (Producto intermedio 45)

40 A una disolución de (S)-4-(3-(4-clorobenzoil)-4,5-dimetiltiofen-2-ilcarbamoil)-2,2-dimetiloxazolidin-3-carboxilato de *tert*-butilo (1,30 g, 2,64 mmol) en MeOH (13 ml) se le añadió HCl conc. (2,64 ml, 4,34 mmol) a temperatura ambiente. Se sometió a reflujo la mezcla de reacción durante 1 hora y luego se concentró a vacío. Se diluyó el residuo con EtOAc y se lavó con NaHCO<sub>3</sub> ac. saturado y salmuera, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró a vacío para obtener el compuesto del título (770 mg, 82%) como un sólido amarillo, que se usó para la siguiente

reacción sin purificación adicional.

$^1\text{H-RMN}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  12,1 (s, 1H), 7,59 (d,  $J = 8,0$  Hz, 2H), 7,43 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 4,03 (dd,  $J = 10,6, 5,0$  Hz, 1H), 3,82 (dd,  $J = 10,6, 5,4$  Hz, 1H), 3,65 (t,  $J = 4,8$  Hz, 1H), 2,28 (s, 3H), 1,72 (s, 3H). \* Los tres protones de  $\text{NH}_2$  y el OH no se observaron.

Etapa 5: preparación de (S,Z)-5-(4-clorofenil)-3-(hidroximetil)-6,7-dimetil-1H-tieno[2,3-e][1,4]diazepin-2(3H)-ona (Producto intermedio 46)

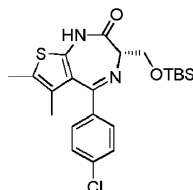


46

Se sometió a reflujo una mezcla de (S)-2-amino-N-(3-(4-clorobenzoil)-4,5-dimetiltiofen-2-il)-3-hidroxiopropanamida (770 mg, 2,18 mmol) y ácido acético ( $\text{AcOH}$ ) (3,12 ml, 54,6 mmol) en tolueno (10 ml) durante 2 horas y luego se concentró a vacío para obtener el compuesto del título (723 mg, 99%) como un sólido amarillo, que se usó para la siguiente reacción sin purificación adicional.

CL/EM  $m/z$  335,1  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , T.r. = 0,46 min.

Etapa 6: preparación de (S,Z)-3-((*tert*-butildimetilsililo)metil)-5-(4-clorofenil)-6,7-dimetil-1H-tieno[2,3-e][1,4]diazepin-2(3H)-ona (Producto intermedio 47)

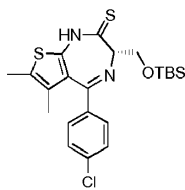


47

A una disolución de (S,Z)-5-(4-clorofenil)-3-(hidroximetil)-6,7-dimetil-1H-tieno-[2,3-e][1,4]diazepin-2(3H)-ona (723mg, 2,16 mmol) en DMF (11 ml) se le añadió imidazol (250 mg, 3,67 mmol) seguido por TBDMS-Cl (488 mg, 3,24 mmol) a temperatura ambiente. Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante la noche. Después de la concentración a vacío, se diluyó el residuo con EtOAc, se lavó con HCl ac. 2 N,  $\text{NaHCO}_3$  ac. saturado, agua y salmuera sucesivamente, se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtró y se concentró a vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna sobre  $\text{SiO}_2$  (Hex:EtOAc = de 7:1 a 5:1 a 3:1) para obtener el compuesto del título (417 mg, 43%) como un sólido blanco.

$^1\text{H-RMN}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8,30 (s, 1H), 7,46 (d,  $J = 8,8$  Hz, 2H), 7,34 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 4,58 (dd,  $J = 10,4, 7,2$  Hz, 1H), 4,26 (dd,  $J = 10,4, 6,0$  Hz, 1H), 3,86 (t,  $J = 6,6$  Hz, 1H), 2,29 (s, 3H), 1,60 (s, 3H), 0,93 (s, 9H), 0,16 (s, 3H), 0,14 (s, 3H).

Etapa 7: preparación de (S,Z)-3-((*tert*-butildimetilsililo)metil)-5-(4-clorofenil)-6,7-dimetil-1H-tieno[2,3-e][1,4]diazepin-2(3H)-iona (Producto intermedio 48)



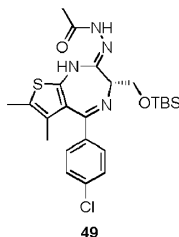
48

Se agitó una mezcla de  $\text{P}_4\text{S}_{10}$  (206 mg, 0,464 mmol) y carbonato de sodio (49,2 mg, 0,464 mmol) en THF (5 ml) durante 1 hora a temperatura ambiente y se enfrió hasta  $0^\circ\text{C}$ . Después de la adición de una disolución de (S,Z)-3-((*tert*-butildimetilsililo)metil)-5-(4-clorofenil)-6,7-dimetil-1H-tieno[2,3-e][1,4]diazepin-2(3H)-ona (417 mg, 0,929 mmol) en THF (1,0 ml) a la mezcla, se agitó la mezcla de reacción a  $0^\circ\text{C}$  durante 30 min y luego durante

5 días a temperatura ambiente. Después de la filtración a través de un lecho de Celite, se concentró a vacío el filtrado. Se disolvió el residuo en EtOAc, se lavó con NaHCO<sub>3</sub> ac. saturado dos veces y salmuera, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró a vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna sobre SiO<sub>2</sub> (Hex:EtOAc = 5:1) para obtener el compuesto del título (90,0 mg, 21%) como un aceite viscoso.

5 <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 9,89 (s a, 1H), 7,45 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 7,35 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 4,67 (dd, J = 10,2, 5,4 Hz, 1H), 4,44 (dd, J = 9,4, 7,4 Hz, 1H), 4,00 (t, J = 6,0 Hz, 1H), 2,31 (s, 3H), 1,62 (s, 3H), 0,93 (s, 9H), 0,18 (s, 3H), 0,16 (s, 3H).

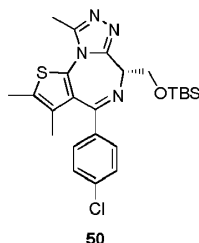
10 Etapa 8: preparación de (Z)-N'-((R,Z)-3-((*tert*-butildimetilsililoxi)metil)-5-(4-clorofenil)-6,7-dimetil-1H-tieno[2,3-e][1,4]diazepin-2(3H)-iliden)acetohidrazida (Producto intermedio 49)



15 A una disolución de (S,Z)-3-((*tert*-butildimetilsililoxi)metil)-5-(4-clorofenil)-6,7-dimetil-1H-tieno[2,3-e][1,4]diazepin-2(3H)-iona (202 mg, 0,434 mmol) en THF (2,0 ml) se le añadió hidrazina monohidratada (82,0 μl, 2,61 mmol) a 0°C. Se agitó la mezcla de reacción durante 3 horas a temperatura ambiente y se enfrió hasta 0°C. Después de la adición de TEA (363 μl, 2,61 mmol) seguido por cloruro de acetilo (185 μl, 2,61 mmol) a la mezcla, se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 12 horas. Después de la concentración a vacío, se disolvió el residuo en DCM y se lavó con agua. Se secó la fase orgánica separada sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró a vacío para obtener el compuesto del título (204 mg, 93%) como un sólido blanco, que se usó para la siguiente reacción sin purificación adicional.

CL/EM m/z 505,2 [M+H]<sup>+</sup>, T.r. = 0,29 min

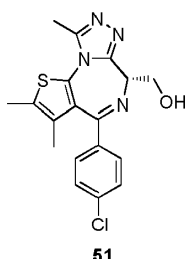
25 Etapa 9: preparación de (R)-6-(((*tert*-butildimetilsilil)oxi)metil)-4-(4-clorofenil)-2,3,9-trimetil-6H-tieno[3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepina (Producto intermedio 50)



30 Se sometió a reflujo una mezcla de (Z)-N'-((R,Z)-3-((*tert*-butildimetilsililoxi)metil)-5-(4-clorofenil)-6,7-dimetil-1H-tieno[2,3-e][1,4]diazepin-2(3H)-iliden)acetohidrazida (204 mg, 0,404 mmol) y ácido acético (763 μl, 13,3 mmol) en THF (2,0 ml) durante 12 horas. Después de la concentración a vacío, se diluyó el residuo con EtOAc, se lavó con NaHCO<sub>3</sub> ac. saturado, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró a vacío para obtener el compuesto del título (195 mg, 92%) como un aceite amarillo viscoso, que se usó para la siguiente reacción sin purificación adicional.

35 <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,46 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,34 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 4,75-4,68 (m, 2H), 4,18 (dd, J = 7,2, 5,6 Hz, 1H), 2,67 (s, 3H), 2,41 (s, 3H), 1,70 (s, 3H), 0,95 (s, 9H), 0,21 (s, 3H), 0,18 (s, 3H).

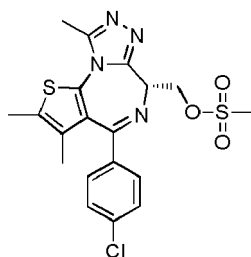
40 Etapa 10: preparación de (R)-4-(4-clorofenil)-2,3,9-trimetil-6H-tieno[3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-6-il)metanol (Producto intermedio 51)



A una disolución de (*R*)-6-(((*tert*-butildimetilsilil)oxi)metil)-4-(4-clorofenil)-2,3,9-trimetil-6H-tieno[3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepina (195 mg, 0,402 mmol) en THF (2,0 ml) se le añadió TBAF (805  $\mu$ l, 0,805 mmol, disolución 1 M en THF) a temperatura ambiente. Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante la noche y se extinguió con  $\text{NH}_4\text{Cl}$  ac. saturado. Se extrajo la mezcla con EtOAc dos veces. Se lavaron las fases orgánicas combinadas con salmuera, se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtraron y se concentraron a vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna sobre  $\text{SiO}_2$  (EtOAc solo hasta EtOAc:MeOH = 10:1) para obtener el compuesto del título (110 mg, 73%) como un sólido blanco.

$^1\text{H-RMN}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,46 (d,  $J$  = 8,4 Hz, 2H), 7,35 (d,  $J$  = 8,0 Hz, 2H), 4,66 (dd,  $J$  = 11,2, 7,2 Hz, 1H), 4,54 (dd,  $J$  = 11,6, 5,6 Hz, 1H), 4,26 (t,  $J$  = 6,2 Hz, 1H), 3,23 (s a, 1H), 2,69 (s, 3H), 2,42 (s, 3H), 1,69 (s, 3H).

Etapa 11: preparación de metanosulfonato de (*R*)-(4-(4-clorofenil)-2,3,9-trimetil-6H-tieno[3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-6-il)metilo (Compuesto 15)



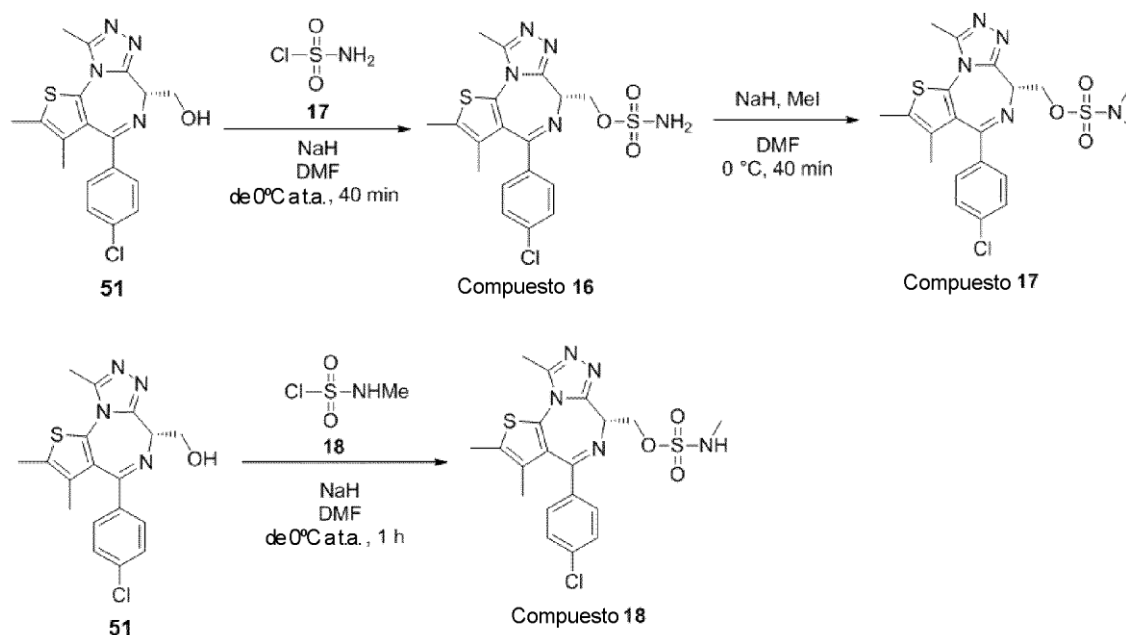
Compuesto 15

A una disolución de (*R*)-(4-(4-clorofenil)-2,3,9-trimetil-6H-tieno[3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-6-il)metanol (48,0 mg, 0,131 mmol) en DCM (1,0 ml) se le añadió MsCl (20,4  $\mu$ l, 0,261 mmol) seguido por TEA (45,5  $\mu$ l, 0,327 mmol) a 0°C. Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 2 horas y se diluyó con DCM. Se lavó la mezcla resultante con HCl ac. 2 N y  $\text{NaHCO}_3$  ac. saturado, se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtró y se concentró a vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna sobre  $\text{SiO}_2$  (EtOAc:MeOH = 10:1) para obtener el compuesto del título (46,0 mg, 78%) como un sólido amarillo.

$^1\text{H-RMN}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,45 (d,  $J$  = 8,4 Hz, 2H), 7,36 (d,  $J$  = 8,8 Hz, 2H), 5,32 (dd,  $J$  = 10,4, 6,4 Hz, 1H), 5,18 (dd,  $J$  = 10,4, 6,8 Hz, 1H), 4,48 (t,  $J$  = 6,6 Hz, 1H), 3,21 (s, 3H), 2,69 (s, 3H), 2,43 (s, 3H), 1,71 (s, 3H).

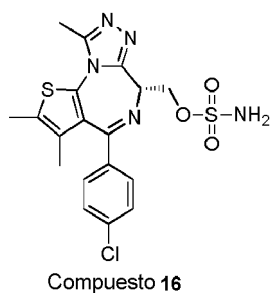
CL-EM m/z 451,1  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , T.r. = 3,21 min

**Ejemplos 16 a 18**



**Ejemplo 16:** preparación de sulfamato de (*R*)-(4-(4-clorofenil)-2,3,9-trimetil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-6-il)metilo (Compuesto 16)

5



A una disolución de (*R*)-(4-(4-clorofenil)-2,3,9-trimetil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-6-il)metanol (producto intermedio 51, 85,0 mg, 0,228 mmol) en DMF (1,0 ml) se le añadió NaH (55% en peso, 15,0 mg, 0,342 mmol) seguido por cloruro de sulfamoilo (producto intermedio 17, 342  $\mu$ l, 0,684 mmol) a 0°C. Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 40 min y se diluyó con EtOAc. Se lavó la mezcla resultante con HCl ac. 2 N y NaHCO<sub>3</sub> ac. saturado, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró a vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna sobre SiO<sub>2</sub> (EtOAc:MeOH = 10:1) para obtener el compuesto del título (78,0 mg, 76%) como un sólido blanco.

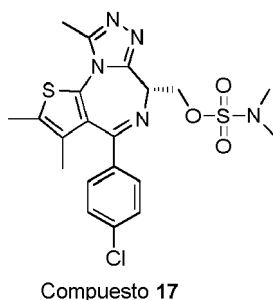
15

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  7,45 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 7,36 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H), 5,63 (s, 2H), 5,36 (dd, *J* = 10,4, 8 Hz, 1H), 5,05 (dd, *J* = 10,6, 5,4 Hz, 1H), 4,47 (t, *J* = 6,6 Hz, 1H), 2,69 (s, 3H), 2,43 (s, 3H), 1,71 (s, 3H).

CL-EM *m/z* 452,1 [M+H]<sup>+</sup>, T.r. = 2,99 min.

20

**Ejemplo 17:** preparación de dimetilsulfamato de (*R*)-(4-(4-clorofenil)-2,3,9-trimetil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-6-il)metilo (Compuesto 17)



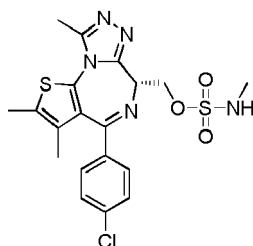
25

A una disolución de sulfamato de (*R*)-(4-(4-clorofenil)-2,3,9-trimetil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-6-il)metilo (compuesto 16, 58,3 mg, 0,129 mmol) en DMF (645  $\mu$ l) se le añadió NaH (55% en peso, 12,4 mg, 0,284 mmol) seguido por MeI (32,3  $\mu$ l, 0,516 mmol) a 0°C. Se agitó la mezcla de reacción a 0°C durante 40 min y se diluyó con EtOAc. Se lavó la mezcla resultante con HCl ac. 2 N y NaHCO<sub>3</sub> ac. saturado, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró a vacío. Se purificó el residuo mediante HPLC preparativa para obtener el compuesto del título (31,0 mg, 50%) como un sólido blanco.

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  7,45 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H), 7,35 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H), 5,25 (dd, *J* = 10,4, 6,0 Hz, 1H), 5,12 (dd, *J* = 9,8, 7,8 Hz, 1H), 4,49 (t, *J* = 6,8 Hz, 1H), 3,01 (s, 6H), 2,68 (s, 3H), 2,43 (s, 3H), 1,71 (s, 3H).

CL-EM *m/z* 480,2 [M+H]<sup>+</sup>, T.r. = 3,00 min.

**Ejemplo 18: preparación de metilsulfamato de (*R*)-(4-(4-clorofenil)-2,3,9-trimetil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-6-il)metilo (Compuesto 18)**



Compuesto 18

A una disolución de (*R*)-(4-(4-clorofenil)-2,3,9-trimetil-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*a*][1,4]diazepin-6-il)metanol (producto intermedio 51, 20,0 mg, 0,0540 mmol) en DMF (0,27 ml) se le añadió NaH (55% en peso, 3,51 mg, 0,0800 mmol) seguido por cloruro de metilsulfamoilo (producto intermedio 18, 9,18  $\mu$ l, 0,161 mmol) a 0°C. Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 1 hora y se diluyó con EtOAc. Se lavó la mezcla resultante con HCl ac. 2 N y NaHCO<sub>3</sub> ac. saturado, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró a vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna sobre SiO<sub>2</sub> (EtOAc:MeOH = 10:1) para obtener el compuesto del título (15,0 mg, 60%) como un sólido blanco.

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  7,45 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,35 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 5,26 (dd, *J* = 10,8, 6,4 Hz, 1H), 5,14-5,19 (m, 1H), 5,07 (dd, *J* = 10,4, 6,8 Hz, 1H), 4,48 (t, *J* = 6,6 Hz, 1H), 2,91 (d, *J* = 5,6 Hz, 3H), 2,69 (s, 3H), 2,43 (s, 3H), 1,71 (s, 3H).

CL-EM *m/z* 466,2 [M+H]<sup>+</sup>, T.r. = 2,98 min.

**Ejemplo de prueba 1: ensayo de unión de bromodominio (medición de CI<sub>50</sub> para inhibidores usando BRD4 Alpha-screen)**

Los ensayos de unión de bromodominio se llevaron a cabo en Reaction Biology (PA, EE.UU.) para someter a prueba los grados de los compuestos de la invención en la inhibición del bromodominio 1 de BRD4 humano mediante el método de ensayo Alpha-screen.

Se usó el bromodominio 1 de BRD4 humano recombinante expresado en *E. coli* con etiqueta His en el extremo N-terminal como la diana enzimática.

Se adquirió un péptido sintético (SGRGACKGGACKGLGACKGGAACKRH-GSGSK-biotina) que contiene aminoácidos del 1° al 21° de histona H4 acetilada en lisina 5, 8, 12 y 16 y conjugado a biotina de Millipore.

Se expresó el BRD4-1 (aminoácidos del 44° al 170°; número de registro de Genbank n.º NM\_058243) en *E. coli* con etiqueta His en el extremo N-terminal (véase, Ni-NTA spin Kit Handbook (Qiagen), segunda edición, enero, 2008). Se usaron perlasceptoras ALPHA de níquel-quelato (Perkin Elmer) para unir específicamente BRD4-1, y se usaron perlas donantes ALPHA de estreptavidina (Perkin Elmer) porque reconocen específicamente el péptido H4 biotinilado. La unión de BRD4-1 al péptido sintético dio como resultado la proximidad de las perlas donantes y receptoras, lo que conduce a un incremento en la señal ALPHA así como a una disminución en la señal ALPHA.

Se realizaron los ensayos de unión de BRD en una mezcla que comprendía Hepes 50 mM (pH 7,5), NaCl 100 mM, CHAPS al 0,05%, BSA al 0,1% y DMSO al 1%. Después de un tiempo de reacción de ensayo de 60 min a 25°C, se midió la unión con perlas donantes de estreptavidina y perlas receptoras de níquel-quelato. Se detectó la señal ALPHA en Enspire (Ex/Em=680/520-620 nm). Se calcularon los valores de CI<sub>50</sub> a partir del ajuste de las curvas dosis-respuesta. Todos los valores de CI<sub>50</sub> representan valores medios geométricos de un mínimo de cuatro

determinaciones. Estos ensayos produjeron generalmente resultados dentro de 3 veces la media informada.

Los resultados se muestran en la tabla 1.

**5 Ejemplo de prueba 2: prueba de actividad antiproliferativa**

Se midió el  $CI_{50}$  ( $\mu M$ ) de los compuestos obtenidos en los ejemplos 1 a 18 frente a células cancerosas hemáticas y tumores sólidos para identificar actividades antiproliferativas.

10 Se usaron una línea celular de adenocarcinoma prostático humana, LnCAP (ATCC®, CRI-1740) y una línea celular de leucemia humana MV4-11 (ATCC®, CRI-9591) para someter a prueba los grados de los compuestos 1 a 18 en la inhibición del crecimiento de células cancerosas. Se ajustó la concentración celular de prueba a  $6,7 \times 10^3$  células/ml con un medio de cultivo complementado con FBS al 10%, en la temperatura de 37°C, el 5% de CO<sub>2</sub> y el 95% de humedad. Se adquirieron los medios de cultivo y el FBS de GIBCO. Se añadieron 90  $\mu l$  de suspensiones celulares así obtenidas a dos placas de 96 pocillos con la densidad celular final de 600 células/pocillo, seguido por la adición de 10  $\mu l$  de medio de cultivo a cada pocillo de la placa. Se incubaron las placas durante la noche en una incubadora humidificada a 37°C con el 5% de CO<sub>2</sub>.

20 Se disolvió cada uno de los compuestos 1 a 18 con dimetilsulfóxido (DMSO) o disolución de tampón fosfato (PBS) como una disolución madre, y se prepararon 200 disoluciones de compuesto de prueba (2 mM) usando DMSO. Luego, se diluyó la disolución de DMSO así obtenida 20 veces con medio de cultivo o PBS para obtener 10 disoluciones de trabajo. Se dispensaron 10  $\mu l$  de 10 disoluciones de trabajo (disolución de fármaco) a cada pocillo (por triplicado para cada concentración). La concentración final de DMSO en el medio de cultivo fue del 0,5% [v/v].

25 Se determinó la viabilidad celular usando el ensayo CellTiter-Glo®(CTG). Se añadieron 100  $\mu l$  de CellTiter-Glo® a un volumen igual de las células cultivadas para registrar la luminiscencia en un lector EnVision Multi Label. Los resultados se muestran en la tabla 1.

**Ejemplo de prueba 3: estabilidad microsómica del hígado humano/de ratón**

30 Se llevaron a cabo ensayos de aclaramiento microsómico del hígado humano y de ratón en CROWN Biosciences (Taicang, China). Se adquirieron los microsomas de hígado humano (n.º de catálogo X008067, lote n.º KQB) y microsomas de hígado de ratón (n.º de catálogo M1000, lote n.º 1210302) de Celsis y Xenotech, respectivamente.

35 Se diluyeron 5  $\mu l$  de disolución madre de compuesto de prueba con 495  $\mu l$  de metanol/agua 1:1 (concentración final: 100  $\mu M$ , el 50% de MeOH) y se combinó con 534  $\mu l$  de la respectiva disolución de microsomas de hígado (concentración final: 1,111  $\mu M$ , el 0,555% de MeOH). La concentración final de la disolución de microsomas de hígado fue de 0,7 mg de proteína/ml.

40 Se realizaron incubaciones de las disoluciones de microsomas de hígado en una placa de 96 pocillos a 37°C. Se añadieron 90  $\mu l$  de las disoluciones de microsomas de hígado al blanco, y se añadieron 90  $\mu l$  de disolución de trabajo del compuesto de prueba a todas las placas excepto al blanco.

45 Se calentaron todas las placas así obtenidas en un baño de agua a 37°C durante 10 min, y se añadieron a las placas 10  $\mu l$  de disolución de cofactor NADPH que comprende 42 mg de  $\beta$ -nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (Sigma, n.º de catálogo N0505, lote 020M7009V), 84 mg de ácido isocítrico (Sigma, n.º de catálogo 11252, lote 119K1099) y 0,478 ml de deshidrogenasa isocítrica (Sigma, n.º de catálogo 12002, lote 086K7055, 15 unidades/mg de proteína, calentada en un baño de agua a 37°C durante 5 min. Se incubaron las placas resultantes a 37°C en el siguiente orden: T60 (se incubaron los compuestos de prueba con la disolución microsómica de hígado y NADPH durante 60 min a 37°C), T30 (tal como para 30 min.) y T10 (tal como para 10 min.). Se añadieron a las placas 300  $\mu l$  de una disolución de parada fría (4°C) (acetonitrilo (ACN) que incluía 500 nM de tolbutamida como patrón interno) y 10  $\mu l$  de disolución de cofactor NADPH para iniciar la placa (T0: el 100% del compuesto original sin ninguna reacción). Se paró la reacción añadiendo 300  $\mu l$  de la disolución de parada fría (4°C) a las otras placas en el siguiente orden: T10 en primer lugar, luego T30 y T60.

55 Se centrifugaron las muestras a 4.000 rpm durante 20 min y se transfirieron a Bioanalytical Services para análisis de cromatografía líquida-espectrometría de masas (CL-EM)/EM (Waters UPLC/API 4000, inyección de 10  $\mu l$ ). Los resultados se muestran en la tabla 1.

60 [Tabla 1]

	Ejemplo de prueba 1	Ejemplo de prueba 2	Ejemplo de prueba 3
	$CI_{50}$ ( $\mu M$ ) de la unión de BRD4-1	$CI_{50}$ ( $\mu M$ ) de la proliferación celular (LnCAP/ MV4-11)	Aclaramiento microsómico de hígado (humano/de ratón)

			( $\mu$ l/min/mg)
Compuesto 1	0,19	0,47/0,31	2,3/4,7
Compuesto 2	0,22	0,60/0,41	1,9/8,1
Compuesto 3	0,39	0,83/1,81	71,3/39,7
Compuesto 4	0,42	0,13/0,69	6,3/8,9
Compuesto 7	0,23	0,83/3,34	2,1/3,4
Compuesto 8	0,22	0,96/1,49	5/5
Compuesto 9	0,28	1,90/1,49	126/86
Compuesto 10	0,40	0,57/0,35	29/21
Compuesto 11	0,087	0,19/0,32	8,6/8,6
Compuesto 12	0,11	44,05/1,07	5,6/6,9
Compuesto 13	0,11	0,43/0,29	12,3/7,4
Compuesto 14	0,38	-	8,3/6,3
Compuesto 15	0,10	0,48/0,50	20/22
Compuesto 16	0,25	-	10/9
Compuesto 17	0,90	-	171/138
Compuesto 18	0,16	-	51/49

Tal como se muestra en la tabla 1, los compuestos de los ejemplos 1 a 18 mostraron una buena actividad de unión a enzimas, y actividad antiproliferativa de células cancerosas en LnCAP (adenocarcinoma prostático humano) y MV4-11 (leucemia humana). Además, dichos compuestos fueron extremadamente estables en microsomas de hígado humano y de ratón.

Además, se sometieron a prueba las actividades antiproliferativas de los compuestos 1 y 2 en las líneas celulares de cáncer adicionales, es decir, OPM-2 (mieloma múltiple, DSMZ®, ACC50), A375 (melanoma maligno, ATCC®, CRI-1619), SK-LU-1 (adenocarcinoma, ATCC® HTB-57™), RS4;11 (leucemia linfocítica aguda, ATCC® CRI-1873™), MOLM13 (leucemia mielógena aguda, DSMZ®, ACC554), HL60 (leucemia promielocítica aguda, SIBS®, TCHu23), MOLT-4 (leucemia linfocítica aguda, SIBS®, TCHu37), Daudi (linfoma B, ATCC® CCI-213™), MDA-MB-435 (mama, ATCC® HTB-129™) y NCI-H526 (variante de cáncer de pulmón de células pequeñas, ATCC® CRI-5811™) según el método descrito en el ejemplo de prueba 2. Los resultados se muestran en la tabla 2.

[Tabla 2]

Proliferación celular, $CI_{50}$ (uM)	Compuesto 1	Compuesto 2
OPM-2 (mieloma múltiple)	1,45	0,65
A375 (melanoma maligno)	5,57	9,30
SKLU-1 (adenocarcinoma)	6,96	1,45
RS4;11 (leucemia linfocítica aguda)	3,14	- (no determinado)
MOLM13 (leucemia mielógena aguda)	1,52	-
HL60 (leucemia promielocítica aguda)	1,24	-
MOLT-4 (leucemia linfocítica aguda)	2,63	-
Daudi (linfoma B)	5,09	-
MDA-MB-435 (mama)	5,99	-
NCI-H526 (variante de cáncer de pulmón de células pequeñas)	2,62	-

Tal como se muestra en la tabla 2, los compuestos 1 y 2 mostraron buenas actividades antiproliferativas en líneas celulares de tumores sólidos.

#### Ejemplo de prueba 4: farmacocinética animal (PK)



Se evaluó la farmacocinética de los compuestos 1, 2, 7, 8, 11 y 15 en ratones ICR (6~8 semanas, 20~25g) después de la administración intravenosa (i.v.) a 10 mg/kg y administración oral (v.o.) a 10 mg/kg de nivel de dosis, respectivamente. Especialmente, el nivel de dosis adicional del compuesto 1 fue de 30 mg/kg.

5 Para el análisis de compuestos séricos, se recogieron muestras de sangre mediante punción cardíaca a lo largo de un transcurso de tiempo de 24 h. Se añadieron 20 µl de plasma de adición conocida en una placa de 96 pocillos, añadiendo diez volúmenes de patrón interno (IS) en acetonitrilo (ACN) a la proteína precipitada obtenida mezclada completamente, se centrifugó a 4.000 rpm durante 10 min. Se transfirieron 150 µl de sobrenadante así obtenido a  
10 otra placa de 96 pocillos previamente etiquetada, se mezcló con 150 µl de agua. Se inyectaron 5 µl o 10 µl de la mezcla en el sistema de CL-EM en las siguientes condiciones:

Columna: API-4000 + Waters UPLC (TCLM08);

15 Fase móvil: agua:MeOH = 100:0, 30:70, 5:95 y 100:0 (% v/v);

Velocidad de flujo: 0,45 ml/min.

20 El límite de cuantificación inferior (LLOQ) fue a 1 ng/ml. Se calcularon los parámetros farmacocinéticos de semivida ( $T_{1/2}$ ), aclaramiento (CL), concentración máxima de plasma ( $C_{máx}$ ), tiempo de residencia medio (MRT) y biodisponibilidad (F%), exposición al plasma (AUC) del compuesto usando Phoenix WinNonlin 6.3 (modelo no compartimentado). Los resultados de la farmacocinética de ratón se muestran en la tabla 3.

[Tabla 3]

25

Compuesto	Vía	mpk (mg/kg)	AUC (uM.h)	CL (ml/min/kg)	$T_{1/2}$	MRT (h)	F%
Compuesto 1	i.v.	10	74	5,1	2,9	4,7	-
	v.o.	10	76	-	2,7	6,2	103,3
	i.v.	30	302	3,7	2,7	-	-
	v.o.	30	260	-	2,4	-	86,2
Compuesto 2	i.v.	10	73	4,9	2,4	3,9	-
	v.o.	10	66	-	2,3	4,1	89,8
Compuesto 7	i.v.	10	17,3	22,5	3,6	-	-
	v.o.	10	8,19	-	4,3	-	47,4
Compuesto 8	i.v.	10	41	9	2,6	-	-
	v.o.	10	31,5	-	3,2	-	62,3
Compuesto 11	i.v.	10	20	16,8	1,3	-	-
	v.o.	10	11,7	-	1,9	-	58,4
Compuesto 15	i.v.	10	27	13,5	1,6	1,9	-
	v.o.	10	31	-	2,5	2,5	105,4

Tal como se muestra en la tabla 3, los compuestos sometidos a prueba mostraron una excelente PK de ratón, en las vías tanto i.v. como v.o.

30 Además, la farmacocinética de ratón del compuesto 1 se muestra en la figura 1. Tal como se muestra en la figura 1, el compuesto 1 mostró una buena linealidad de la dosis en la exposición al plasma.

35 Además, se evaluó la farmacocinética del compuesto 1 en ratas Sprague Dawley (SD) después de la administración i.v. a 3 mg/kg o 10 mg/kg de nivel de dosis, y administración v.o. a 3 mg/kg o 10 mg/kg de nivel de dosis, respectivamente. Los procedimientos analíticos fueron tal como se describió anteriormente y los resultados de la farmacocinética de rata se muestran en la tabla 4 y la figura 2.

[Tabla 4]

Compuesto	Vía	mpk (mg/kg)	AUC (uM.h)	CL (ml/min/kg)	$T_{1/2}$	MRT (h)	F%
Compuesto 1	i.v.	3	2	54,8	0,7	-	-

	v.o.	3	1	-	1,5	-	50,6
	i.v.	10	15,4	24,9	1,57	1,86	-
	v.o.	10	13,6	-	5,06		88,6

Tal como se muestra en la tabla 4, el compuesto 1 mostró excelentes perfiles de PK de rata.

Además, se evaluó la farmacocinética del compuesto 1 en perro en perros beagle después de la administración i.v. a 3 mg/kg y administración v.o. a 3 mg/kg de nivel de dosis, respectivamente. Los procedimientos analíticos fueron tal como se describió anteriormente y los resultados de la farmacocinética de perro se muestran en la tabla 5 y la figura 3.

[Tabla 5]

Compuesto	Vía	mpk (mg)	AUC (uM.h)	CL (ml/min/kg)	T <sub>1/2</sub>	MRT (h)	F%
Compuesto 1	i.v.	3	19,7	5,6	3,86	4,9	-
	v.o.	3	17,3	-	4,2	-	92,3

Los datos de PK de perro del compuesto 1 fueron una excelente exposición al plasma en i.v. y v.o., y muestran una alta biodisponibilidad (%).

#### 15 Ejemplo de prueba 5: eficacia del compuesto 1 en xenoinjerto de ratón de modelo de leucemia humana MV4-11

Se sometieron a prueba las actividades de inhibición de crecimiento tumoral (TGI) del compuesto 1 en xenoinjerto de ratón de leucemia humana MV4-11.

Se observaron inhibiciones del crecimiento tumoral en un modelo de xenoinjerto subcutáneo de ratón *in vivo* (línea celular MV4-11, ATCC®, CRI-9591). Se usaron un total de 48 ratones hembra NOD/SCID de 6~8 semanas de edad y que pesaban aproximadamente de 18 a 22 g, adquiridos de HFK (Beijing HFK Bio-Technology Co. Ltd.) para la inoculación del tumor.

Se mantuvo la línea celular MV4-11 *in vitro* en IMDM (medios de Dulbecco modificados por Iscove) complementados con suero bovino fetal al 10% a 37°C en una atmósfera del 5% de CO<sub>2</sub> en aire. Se subcultivaron de manera rutinaria las células tumorales dos veces por semana mediante tratamiento con tripsina-EDTA. Se cosecharon las células que crecían en una fase de crecimiento exponencial y se contaron para la inoculación del tumor. Se comenzaron los tratamientos cuando el tamaño del tumor alcanzó aproximadamente 150-200 mm<sup>3</sup>.

Se inoculó por vía subcutánea cada ratón en el costado derecho con células tumorales MV4-11 (1 x 10<sup>7</sup> células) en mezcla de 100 ul de PBS y 100 ul de Matrigel™ para el desarrollo del tumor. Se usaron un total de 48 ratones para cada grupo. Las cantidades de compuestos tratados se representan en miligramos (mg) de compuesto por kilogramo (kg) de peso corporal de animal (mg/kg, mpk). La vía de administración del compuesto de prueba fue inyección v.o. (oral). Se usaron tres grupos de ratones, es decir, grupo de vehículo (grupo de control), grupo de 50 mpk (tratamiento a 50 mpk de compuesto 1 a través de inyección v.o.) y grupo de 100 mpk (tratamiento a 100 mpk de compuesto 1 a través de inyección v.o.). El programa de administración general fue 2 ciclos de tratamiento durante 5 días (5d ON), seguido por 2 días de sin tratamiento (2d OFF).

Se midieron los tamaños del tumor usando un compás calibrador, una vez cada 4 días, y se expresó el volumen del tumor en mm<sup>3</sup> usando la ecuación 1:

[Ecuación 1]

$$V = 0.5 a \times b^2$$

en la que,

a y b son los diámetros largo y corto del tumor, respectivamente.

Los resultados de la inhibición del crecimiento tumoral (% de TGI) de los tres grupos se muestran en la figura 4. Además, el cambio en peso corporal (% de cambio BW) en comparación con el vehículo se muestran en la tabla 6.

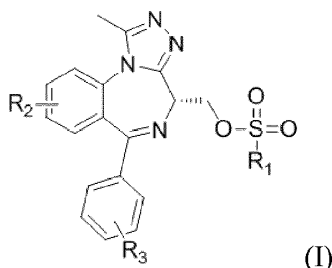
[Tabla 6]

Muestra	Vía	Programa de administración (14 días)	% de TGI	% de cambio BW
Vehículo	v.o.	5d ON/2d Off x 2	0	>5%
Compuesto 1	50 mpk, v.o.	5d ON/2d Off x 2	77	>5%
	100 mpk, v.o.	5d ON/2d Off x 2	84	>5%

Tal como se muestra en la figura 4 y la tabla 6, el compuesto 1 mostró el 84% (% de TGI) a 100 mpk y el 77% a 50 mpk en comparación con el vehículo (0%). Además, el cambio BW (%) fue muy bajo.

REIVINDICACIONES

1. Compuesto de fórmula (I), o sal, hidrato, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable del mismo:

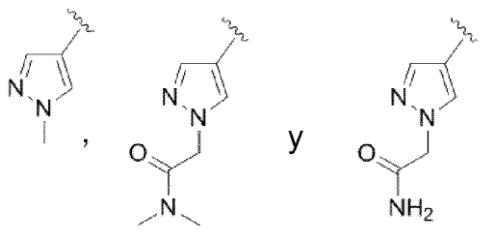


en la que,

R<sub>1</sub> se selecciona del grupo que consiste en alquilo C<sub>1-10</sub>, cicloalquilo C<sub>3-10</sub>, cicloalquil C<sub>3-10</sub>-alquilo C<sub>1-10</sub>, alquil C<sub>1-10</sub>-cicloalquilo C<sub>3-10</sub>, haloalquilo C<sub>1-10</sub>, alquenilo C<sub>2-10</sub> y NRbRb',

en la que, Rb y Rb' se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C<sub>1-10</sub>, alquil C<sub>1-10</sub>-arilo, cicloalquilo C<sub>3-10</sub>, cicloalquil C<sub>3-10</sub>-alquilo C<sub>1-10</sub>, alquil C<sub>1-10</sub>-cicloalquilo, formilo, heterociclilo, heterociclilalquilo, haloalquilo C<sub>1-10</sub>, heteroarilo, aralquilo, heteroarilalquilo C<sub>1-10</sub>, heteroarilarilo, biciclilo condensado, biarilo, ariloxiarilo, heteroariloxiarilo, ariloxiheteroarilo, heteroariloxiheteroarilo, alquenilo C<sub>2-10</sub>, alquinilo C<sub>2-10</sub>, azido, nitro y ciano;

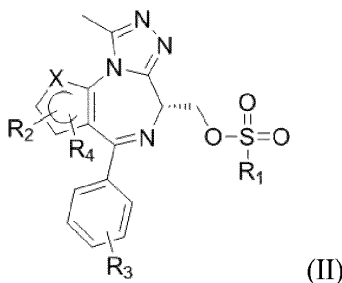
R<sub>2</sub> se selecciona del grupo que consiste en halo, haloalquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxilo C<sub>1-6</sub>, haloalcoxilo C<sub>1-6</sub>, ciano, CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -CONHRd y grupos heteroaromáticos seleccionados del grupo que consiste en:



R<sub>3</sub> se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, hidroxilo, halo, alquilo C<sub>1-6</sub>, haloalquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxilo C<sub>1-6</sub>, haloalcoxilo C<sub>1-6</sub>, nitro, ciano, CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -COORd y -CONHRd; y

Rd es alquilo C<sub>1-3</sub> o hidroxilalquilo C<sub>1-3</sub>.

2. Compuesto de fórmula (II), o sal, hidrato, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable del mismo:



en la que,

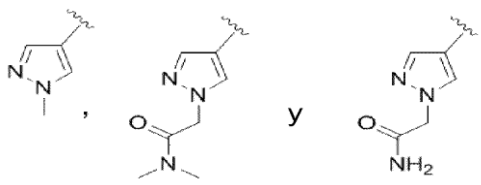
X es C o S;

R<sub>1</sub> se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C<sub>1-10</sub>, alquil C<sub>1-10</sub>-arilo, cicloalquilo C<sub>3-10</sub>, cicloalquil C<sub>3-10</sub>-alquilo C<sub>1-10</sub>, alquil C<sub>1-10</sub>-cicloalquilo C<sub>3-10</sub>, formilo, heterociclilo, heterociclilalquilo C<sub>1-10</sub>, haloalquilo C<sub>1-10</sub>, heteroarilo, aralquilo, heteroarilalquilo C<sub>1-10</sub>, heteroarilarilo, biciclilo condensado, biarilo, ariloxiarilo, heteroariloxiarilo, ariloxiheteroarilo, heteroariloxiheteroarilo, alquenilo C<sub>2-10</sub>, alquinilo C<sub>2-10</sub>, azido,

nitro, ciano, ORa, NRbRb' y CORc,

en la que, Ra, Rb, Rb' y Rc se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C<sub>1-10</sub>, alquil C<sub>1-10</sub>-arilo, cicloalquilo C<sub>3-10</sub>, cicloalquil C<sub>3-10</sub>-alquilo C<sub>1-10</sub>, alquil C<sub>1-10</sub>-cicloalquilo, formilo, heterociclilo, heterociclitalquilo, haloalquilo C<sub>1-10</sub>, heteroarilo, aralquilo, heteroarilalquilo C<sub>1-10</sub>, heteroarilarilo, biciclilo condensado, biarilo, ariloxiarilo, heteroariloxiarilo, ariloxiheteroarilo, heteroariloxiheteroarilo, alqueno C<sub>2-10</sub>, alquinilo C<sub>2-10</sub>, azido, nitro y ciano;

R<sub>2</sub> y R<sub>4</sub> se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, hidroxilo, halo, alquilo C<sub>1-6</sub>, haloalquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxilo C<sub>1-6</sub>, haloalcoxilo C<sub>1-6</sub>, nitro, ciano, CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -COORd, -CONHRd y grupos heteroarómicos seleccionados del grupo que consiste en:



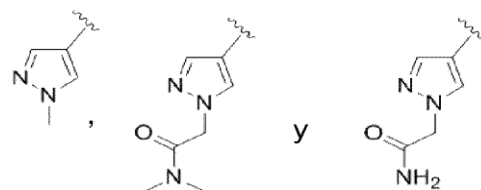
R<sub>3</sub> se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, hidroxilo, halo, alquilo C<sub>1-6</sub>, haloalquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxilo C<sub>1-6</sub>, haloalcoxilo C<sub>1-6</sub>, nitro, ciano, CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -COORd y -CONHRd; y

Rd es alquilo C<sub>1-3</sub> o hidroxilalquilo C<sub>1-3</sub>.

3. Compuesto según la reivindicación 1, en el que

R<sub>1</sub> es alquilo C<sub>1-6</sub>, cicloalquilo C<sub>3-10</sub> o NRbRb', en la que Rb y Rb' son cada uno independientemente hidrógeno o alquilo C<sub>1-6</sub>; y

R<sub>2</sub> es alcoxilo C<sub>1-6</sub>, -CONHRd o grupos heteroarómicos seleccionados del grupo que consiste en:



R<sub>3</sub> es halo; y

Rd es alquilo C<sub>1-3</sub> o hidroxilalquilo C<sub>1-3</sub>.

4. Compuesto según la reivindicación 2, en el que

X es S;

R<sub>1</sub> es alquilo C<sub>1-6</sub> o NRbRb', en la que Rb y Rb' son cada uno independientemente hidrógeno o alquilo C<sub>1-6</sub>;

R<sub>2</sub> y R<sub>4</sub> son cada uno independientemente hidrógeno o alquilo C<sub>1-6</sub>; y

R<sub>3</sub> es halo.

5. Compuesto según la reivindicación 1 ó 2, que se selecciona del grupo que consiste en:

1) metanosulfonato de (R)-(6-(4-clorofenil)-8-metoxi-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-4-il)metilo;

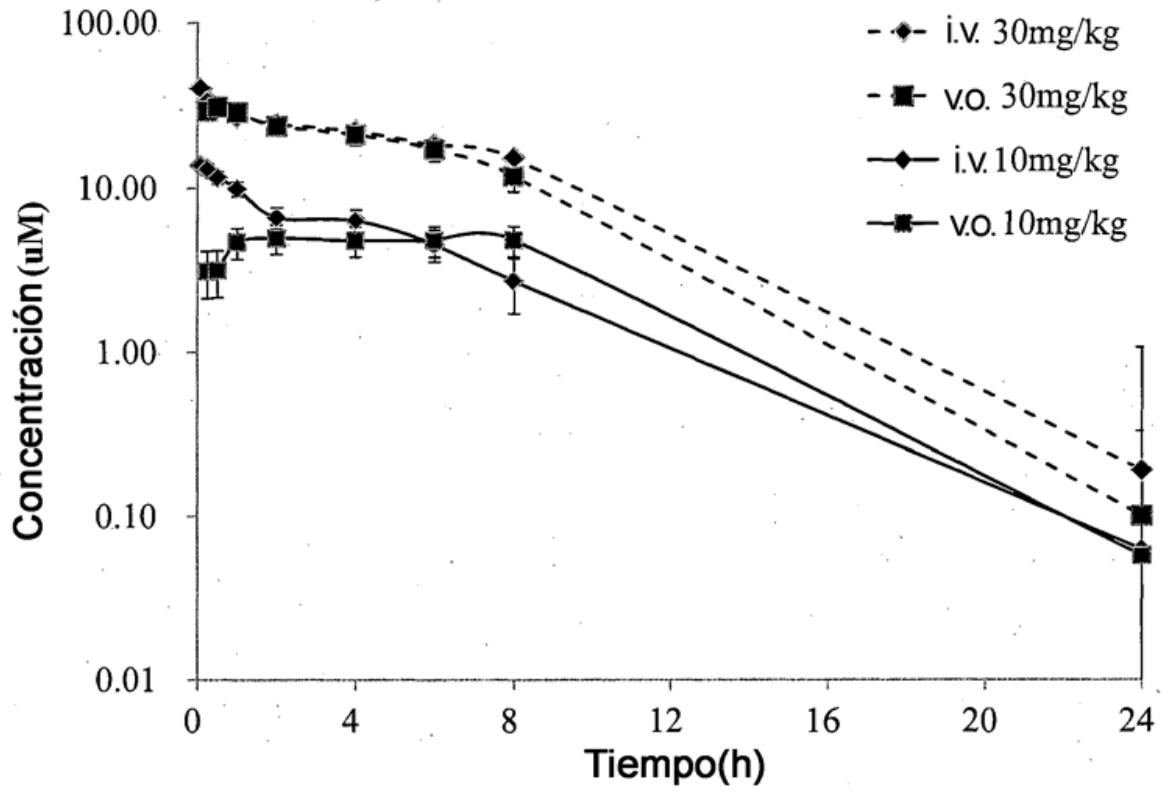
2) etanosulfonato de (R)-(6-(4-clorofenil)-8-metoxi-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-4-il)metilo;

3) propan-1-sulfonato de (R)-(6-(4-clorofenil)-8-metoxi-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-4-il)metilo;

4) ciclopropanosulfonato de (R)-(6-(4-clorofenil)-8-metoxi-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-

- a)[1,4]diazepin-4-il)metilo;
- 7) metanosulfonato de (R)-(6-(4-cianofenil)-8-metoxi-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-4-il)metilo
- 5 8) sulfamato de (R)-(6-(4-clorofenil)-8-metoxi-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-4-il)metilo;
- 10 9) dimetilsulfamato de (R)-(6-(4-clorofenil)-8-metoxi-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-4-il)metilo;
- 10) metilsulfamato de (R)-(6-(4-clorofenil)-8-metoxi-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-4-il)metilo;
- 15 11) metanosulfonato de (R)-(6-(4-clorofenil)-1-metil-8-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-4-il)metilo;
- 12) metanosulfonato de (R)-(8-(1-(2-amino-2-oxoetil)-1H-pirazol-4-il)-6-(4-clorofenil)-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-4-il)metilo;
- 20 13) metanosulfonato de (R)-(6-(4-clorofenil)-8-(1-(2-(dimetilamino)-2-oxoetil)-1H-pirazol-4-il)-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-4-il)metilo;
- 25 14) metanosulfonato de (R)-(6-(4-clorofenil)-8-((2-hidroxi)etil)carbamoil)-1-metil-4H-benzo[f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-4-il)metilo;
- 15) metanosulfonato de (R)-(4-(4-clorofenil)-2,3,9-trimetil-6H-tieno[3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-6-il)metilo;
- 30 16) sulfamato de (R)-(4-(4-clorofenil)-2,3,9-trimetil-6H-tieno[3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-6-il)metilo;
- 17) dimetilsulfamato de (R)-(4-(4-clorofenil)-2,3,9-trimetil-6H-tieno[3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-6-il)metilo; y
- 35 18) metilsulfamato de (R)-(4-(4-clorofenil)-2,3,9-trimetil-6H-tieno[3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-6-il)metilo.
6. Composición farmacéutica para su uso en la prevención o el tratamiento de una transformación precancerosa o un cáncer, que comprende el compuesto según la reivindicación 1 ó 2, o una sal, un hidrato, un solvato o un estereoisómero farmacéuticamente aceptable del mismo como principio activo, y un portador farmacéuticamente aceptable.
- 40 7. Composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 6, en la que el portador farmacéuticamente aceptable se selecciona del grupo que consiste en un aglutinante, una carga, un excipiente, un agente disgregante, un lubricante y un agente aromatizante.
- 45 8. Composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 6, que comprende además al menos un agente farmacéutico adicional que comprende un agente quimioterápico.
- 50 9. Composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 6, en la que la composición se administra a un mamífero que lo necesita.
10. Composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 6, que comprende las etapas de:
- 55 (i) administrar a un mamífero que lo necesita una primera composición que comprende el compuesto según la reivindicación 1 ó 2, o una sal, un hidrato, un solvato o un estereoisómero farmacéuticamente aceptable del mismo, y un portador farmacéuticamente aceptable; y
- 60 (ii) administrar a dicho mamífero que lo necesita una segunda composición que comprende al menos un agente farmacéutico adicional que comprende un agente quimioterápico.
11. Composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 10, en la que la primera composición y la segunda composición se administran simultánea o secuencialmente y en cualquier orden.

Fig. 1



**Fig. 2**

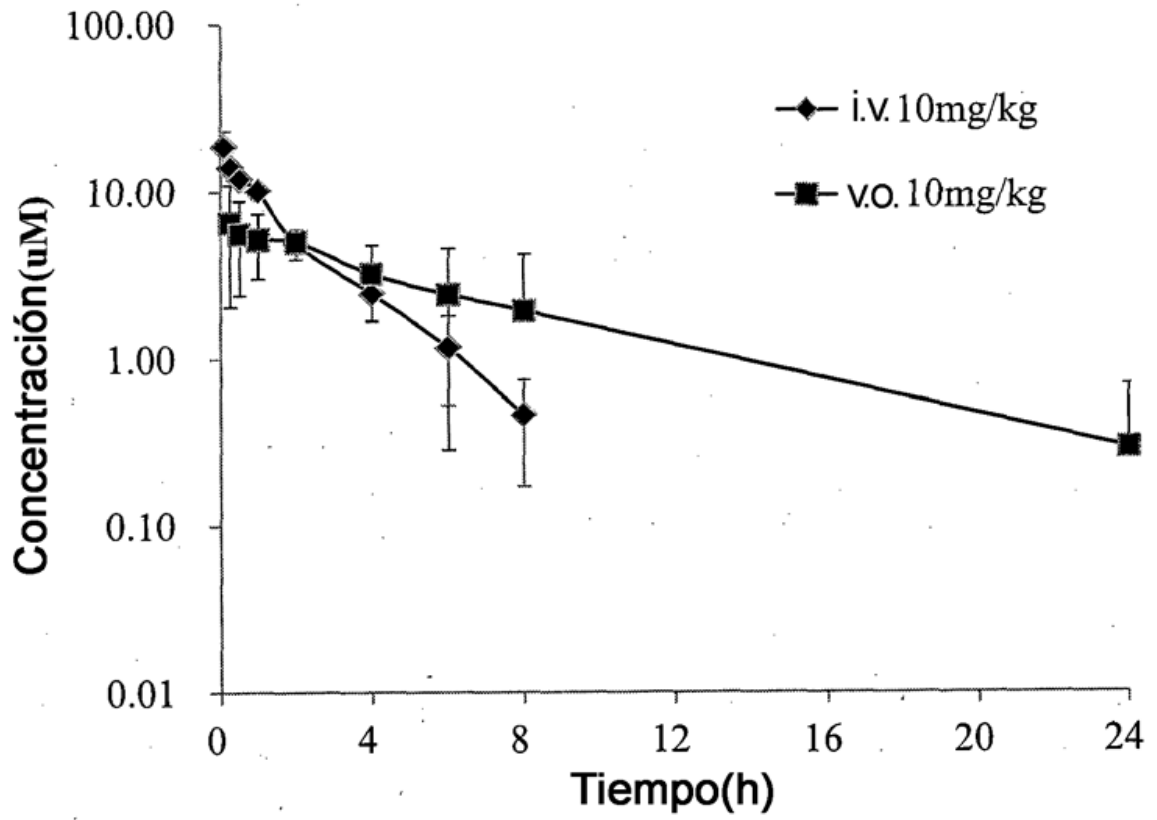




Fig. 3

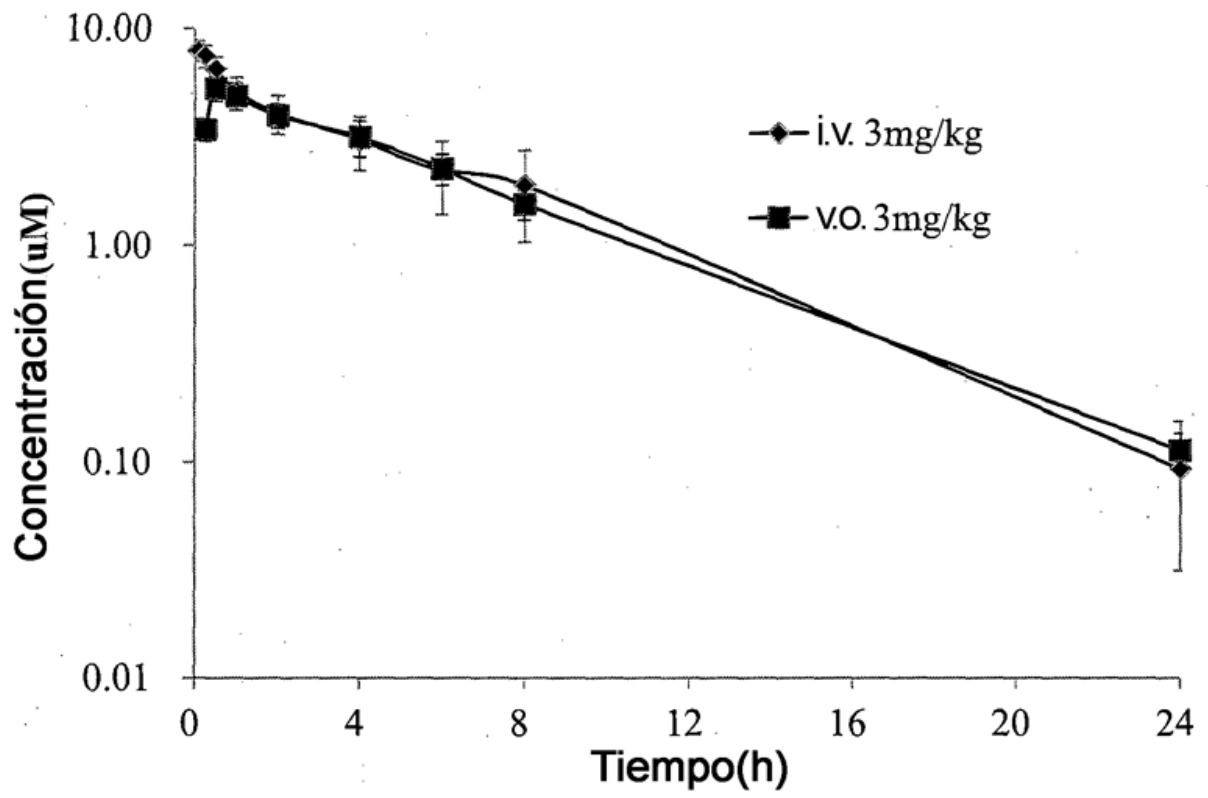


Fig. 4

