

INHIBIDORES DEL POTENCIADOR DEL HOMÓLOGO ZESTE 2

CAMPO DE LA INVENCION

Esta invención se refiere a compuestos que inhiben el potenciador del homólogo Zeste 2 (EZH2) y por lo tanto son útiles para inhibir la proliferación de y/o inducir la apoptosis en células de cáncer.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Las modificaciones epigenéticas tienen una función importante en la regulación de muchos procesos celulares que incluyen la proliferación, diferenciación y supervivencia celular. Las modificaciones epigenéticas globales son comunes en el cáncer e incluyen cambios globales en el ADN y/o metilación de histonas, desregulación de ARN no codificantes y remodelado de nucleosoma que conduce a la activación aberrante o inactivación de oncogenes, supresores tumorales y rutas de señalización. Sin embargo, a diferencia de las mutaciones genéticas que surgen en el cáncer, estos cambios epigenéticos se pueden invertir mediante la inhibición selectiva de las enzimas implicadas. Se sabe que varias metilasas implicadas en la metilación de histonas o ADN están desreguladas en el cáncer. Por lo tanto, los inhibidores selectivos de metilasas particulares serán útiles en el tratamiento de enfermedades proliferativas tales como el cáncer.

EZH2 (“human EZH2 gene”: Cardoso, C, et al; *European J of Human Genetics*, Vol. 8, Nº 3 Páginas 174-180, 2000) es la subunidad catalítica del complejo represor Polycomb 2 (PRC2) que funciona para silenciar los genes diana por trimetilación de la lisina 27 de la histona H3 (H3K27me3). La histona H3 es una de las cinco proteínas histonas principales implicadas en la estructura de la cromatina en células eucariotas. Caracterizadas por un dominio globular principal y una cola N-terminal larga, las histonas están implicadas en la estructura de los nucleosomas, una estructura de “perlas en una cadena”. Las proteínas histonas son altamente modificadas postraduccionalmente, no obstante la histona H3 es la modificada más extensamente de las cinco histonas. La expresión “histona H3” sola es deliberadamente ambigua en cuanto que no distingue entre variantes de secuencia o estado de modificación. La histona H3 es una proteína importante en el campo de la epigenética que surge, donde se cree que sus variantes de secuencia y estados de modificación variables tienen una función en la dinámica y regulación a largo plazo de genes.

Se ha observado mayor expresión de EZH2 en numerosos tumores sólidos que incluyen los de próstata, mama, vejiga, hígado, páncreas, cabeza y cuello, y se correlaciona con la agresividad del cáncer, metástasis y mal resultado (Varambally et al. *Nature* 419:624-629, 2002; Kleer et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 100:11606-11611, 2003; Breuer et al. *Neoplasia* 6:736-743, 2004; Bachmann et al. *Prostate* 65:252-259, 2005; Weikert et al. *Int. J. Mol. Med.* 16:349-353, 2005; Sudo et al. *British Journal of Cancer* 92:1754-1758, 2005; Bachmann et al. *Journal of Clinical Oncology* 24:268-273, 2006). Por ejemplo, hay un mayor riesgo de recaída después de prostatectomía en tumores que expresan niveles altos de EZH2, mayor metástasis, supervivencia sin enfermedad más corta y mayor muerte en los pacientes de cáncer de mama con niveles altos de EZH2 (Varambally et al. *Nature* 419:624-629, 2002; Kleer et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 100:11606-11611, 2003). Más recientemente, se han identificado mutaciones inactivantes en UTX (repeticiones de tetratricopéptido X transcrito de forma ubicua), una desmetilasa H3K27 que funciona en oposición a EZH2, en múltiples tipos de tumores sólidos y hematológicos (incluyendo tumores renal, glioblastoma, esofágico, mama, colon, pulmón no microcítico, pulmón microcítico, vejiga, mieloma múltiple y leucemia mielógena crónica), y niveles bajos de UTX se correlacionan con supervivencia baja en el cáncer de mama, sugiriendo que la pérdida de la función de UTX conduce a mayor nivel de H3K27me3 y represión de genes diana (Wang et al. *Genes & Development* 24:327-332, 2010). Juntos, estos datos sugieren que mayores niveles de H3K27me3 contribuyen a la agresividad del cáncer en muchos tipos de tumores y que la inhibición de la actividad de EZH2 puede proporcionar beneficio terapéutico.

Numerosos estudios han descrito que la reducción de la expresión génica (*knockdown*) directa de EZH2 por ARNip o ARNhp o la pérdida indirecta de EZH2 por tratamiento con el inhibidor de la SAH hidrolasa 3-deazaneplanocin A (DZNep) disminuye la proliferación de la línea de células de cáncer y la invasión *in vitro* y el crecimiento tumoral *in vivo* (Gonzalez et al., 2008, GBM 2009). Aunque el mecanismo preciso por el cual la actividad aberrante de EZH2 conduce a la progresión del cáncer no se conoce, muchos genes diana EZH2 son supresores tumorales, sugiriendo que la pérdida de la función de supresión tumoral es un mecanismo clave. Además, el exceso de expresión de EZH2 en células epiteliales inmortalizadas o primarias promueve el crecimiento e invasión

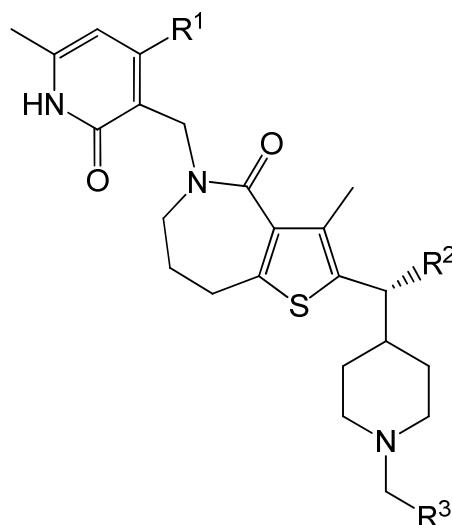
independientes de anclaje y requiere la actividad catalítica de EZH2 (Kleer et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 100:11606-11611, 2003; Cao et al. *Oncogene* 27:7274-7284, 2008).

Por lo tanto, hay evidencia firme que sugiere que la inhibición de la actividad de EZH2 disminuye la proliferación e invasión celular. Por consiguiente, los compuestos que
5 inhiben la actividad de EZH2 serían útiles para el tratamiento del cáncer.

Los provirus del virus de inmunodeficiencia humana (VIH) latentes son silenciados como resultado de la desacetilación y metilación de histonas situadas en la repetición terminal larga (LTR) vírica. Los experimentos de inmunoprecipitación de cromatina que usan líneas de células T Jurkat infectadas de forma latente demostraron que EZH2 estaba
10 presente en niveles altos en la LTR de provirus de VIH silenciados y era rápidamente desplazado después de la reactivación provírica. La reducción de la expresión génica de EZH2 induce hasta 40% de los provirus de VIH latentes. La reducción de la expresión génica de EZH2 también sensibiliza provirus latentes a estímulos externos, tales como estimulación del receptor de células T, y ralentiza la inversión de los provirus reactivados a
15 la latencia. Igualmente, las poblaciones de células que respondían mal a los estímulos externos llevaban provirus de VIH que estaban enriquecidos en H3K27me3 y relativamente reducidos en H3K9me3. Estos descubrimientos sugieren que el silenciamiento medido por PRC2 es una característica importante de la latencia del VIH y que los inhibidores de la metilación de histona pueden tener una función útil en estrategias
20 de inducción diseñadas para erradicar reservas de VIH latentes (Friedman et al. *J. Virol.* 85: 9078-9089, 2011). Estudios adicionales han mostrado que la desmetilación de H3K27 en el promotor provírico sensibiliza al VIH latente frente a los efectos de vorinostat en cultivos ex vivo de células T CD4⁺ en reposo (Tripathy et al. *J. Virol.* 89: 8392-8405, 2015).

SUMARIO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a compuestos según la fórmula (I) o sus sales farmacéuticamente aceptables:



(I)

en donde:

R¹ es alquilo (C₁-C₄) o alcoxi (C₁-C₄);

R² es alquilo (C₁-C₃); y

R³ es alquilo (C₁-C₈), halogenoalquilo (C₁-C₈), hidroxialquilo (C₁-C₈),

10 alcoxi(C₁-C₄)alquilo(C₁-C₈)-, cicloalquilo (C₃-C₅) o bicicloalquilo (C₆-C₁₀), en donde dicho cicloalquilo (C₃-C₅) o bicicloalquilo (C₆-C₁₀) está cada uno opcionalmente sustituido con uno o dos grupos independientemente seleccionados de halógeno, hidroxilo, alcoxi (C₁-C₄), alquilo (C₁-C₄) y halogenoalquilo (C₁-C₄).

Otro aspecto de esta invención se refiere a un método de inducción de apoptosis en
15 células de cáncer de tumores sólidos; al tratamiento de cánceres de tumores sólidos.

Otro aspecto de la invención se refiere a preparaciones farmacéuticas que comprenden compuestos de fórmula (I) y excipientes farmacéuticamente aceptables.

En otro aspecto, se proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, en la fabricación de un medicamento para
20 usar en el tratamiento de un trastorno mediado por EZH2, tal como induciendo la apoptosis en células de cáncer.

En otro aspecto, esta invención proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables para el tratamiento de enfermedades

mediadas por EZH2. La invención proporciona además el uso de un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, como una sustancia terapéutica activa en el tratamiento de una enfermedad mediada por EZH2.

5 En otro aspecto, la invención proporciona un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables para usar en terapia.

En otro aspecto, se proporciona un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para usar en el tratamiento de un trastorno mediado por EZH2.

10 En otro aspecto, se proporciona un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables para usar en el tratamiento de enfermedades de proliferación celular.

En otro aspecto, se proporciona un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables para usar en el tratamiento del cáncer, que incluye el tratamiento de tumores sólidos, por ejemplo cáncer cerebral (gliomas), glioblastomas, leucemias, linfomas, síndrome de Bannayan-Zonana, enfermedad de Cowden, enfermedad de Lhermitte-Duclos, cáncer de mama, cáncer de mama inflamatorio, tumor de Wilms, sarcoma de Ewing, rabdomiosarcoma, ependimoma, meduloblastoma, cáncer de colon, cáncer gástrico, cáncer de vejiga, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de riñón, cáncer de pulmón, cáncer de hígado, melanoma, cáncer renal, cáncer de ovario, cáncer pancreático, 20 cáncer de próstata, cáncer sarcoma, cáncer osteosarcoma, tumor de células gigantes del hueso y cáncer de tiroides. En otro aspecto, se proporciona un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables para usar en el tratamiento de un cáncer hematológico, por ejemplo, leucemia mielógena aguda, leucemia mielógena crónica, leucemia linfoblástica aguda, leucemia linfoblástica crónica, enfermedades 25 mieloproliferativas, mieloma múltiple, síndrome mielodisplásico, enfermedad de Hodgkin, y linfoma no Hodgkin, en particular un linfoma no Hodgkin, por ejemplo, linfoma difuso de células B grandes (DLBCL) y linfoma folicular.

En otro aspecto se proporcionan métodos de coadministración de los presentes compuestos de la invención de fórmula (I) con otros ingredientes activos.

30 En otro aspecto se proporciona una combinación de un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, y al menos un agente antineoplásico para usar en el tratamiento de un trastorno mediado por EZH2.

En otro aspecto se proporciona una combinación de un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, y al menos un agente antineoplásico para usar en el tratamiento de enfermedades de proliferación celular.

En otro aspecto se proporciona una combinación de un compuesto de fórmula (I) o
5 una de sus sales farmacéuticamente aceptables, y al menos un agente antineoplásico para usar en el tratamiento del cáncer, que incluye el tratamiento de tumores sólidos, por ejemplo, cáncer cerebral (gliomas), glioblastomas, leucemias, linfomas, síndrome de Bannayan-Zonana, enfermedad de Cowden, enfermedad de Lhermitte-Duclos, cáncer de mama, cáncer de mama inflamatorio, tumor de Wilms, sarcoma de Ewing,

10 rabdomiosarcoma, ependimoma, meduloblastoma, cáncer de colon, cáncer gástrico, cáncer de vejiga, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de riñón, cáncer de pulmón, cáncer de hígado, melanoma, cáncer renal, cáncer de ovario, cáncer pancreático, cáncer de próstata, cáncer sarcoma, cáncer osteosarcoma, tumor de células gigantes del hueso y cáncer de tiroides.

En otro aspecto, se proporciona una combinación de un compuesto de fórmula (I) o una de
15 sus sales farmacéuticamente aceptables, y al menos un agente antineoplásico para usar en el tratamiento de un cáncer hematológico, por ejemplo, leucemia mielógena aguda, leucemia mielógena crónica, leucemia linfoblástica aguda, leucemia linfoblástica crónica, enfermedades mieloproliferativas, mieloma múltiple, síndrome mielodisplásico, enfermedad de Hodgkin, y linfoma no Hodgkin, en particular un linfoma no Hodgkin, por
20 ejemplo, linfoma difuso de células B grandes (DLBCL) y linfoma folicular.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La figura 1 muestra un patrón de difracción de rayos X de polvo de la sal de ácido
25 clorhídrico del compuesto del ejemplo 1 (Forma II).

La figura 2 muestra un espectro de Raman de la sal de ácido clorhídrico del compuesto del ejemplo 1 (Forma II).

La figura 3 muestra la señal de una calorimetría diferencial de barrido de la sal de ácido clorhídrico del compuesto del ejemplo 1 (Forma II).

30 La figura 4 muestra la señal de un análisis termogravimétrico de la sal de ácido clorhídrico del compuesto del ejemplo 1 (Forma II).

La figura 5 muestra un patrón de difracción de rayos X de polvo de la sal de ácido clorhídrico del compuesto del ejemplo 10 (Forma I).

La figura 6 muestra un espectro de Raman de la sal de ácido clorhídrico del compuesto del ejemplo 1 (Forma I).

La figura 7 muestra la señal de una calorimetría diferencial de barrido de la sal de ácido clorhídrico del compuesto del ejemplo 10 (Forma I).

- 5 La figura 8 muestra la señal de un análisis termogravimétrico de la sal de ácido clorhídrico del compuesto del ejemplo 10 (Forma I).

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Esta invención se refiere a compuestos de fórmula (I) como se han definido antes o sus sales farmacéuticamente aceptables.

- 10 En una realización, esta invención se refiere a compuestos de fórmula (I) en donde R^1 es alquilo (C_1-C_4) o alcoxi (C_1-C_4). En otra realización, esta invención se refiere a compuestos de fórmula (I) en donde R^1 es alquilo (C_1-C_4). En otra realización, esta invención se refiere a compuestos de fórmula (I) en donde R^1 es metilo, etilo, n-propilo o metoxi. En otra realización, esta invención se refiere a compuestos de fórmula (I) en donde R^1 es metilo o metoxi. En una realización específica, esta invención se refiere a compuestos de fórmula (I) en donde R^1 es metilo.

- En una realización, esta invención se refiere a compuestos de fórmula (I) en donde R^2 es alquilo (C_1-C_3). En otra realización, esta invención se refiere a compuestos de fórmula (I) en donde R^2 es metilo, etilo, n-propilo o isopropilo. En otra realización, esta invención se refiere a compuestos de fórmula (I) en donde R^2 es metilo o etilo. En una realización específica, esta invención se refiere a compuestos de fórmula (I) en donde R^2 es metilo.

- En una realización, esta invención se refiere a compuestos de fórmula (I) en donde R^3 es alquilo (C_1-C_8), halogenoalquilo (C_1-C_8), hidroxialquilo (C_1-C_8), alcoxi(C_1-C_4)alquilo(C_1-C_8)-, cicloalquilo (C_3-C_5) o bicicloalquilo (C_6-C_{10}), en donde dicho cicloalquilo (C_3-C_5) o bicicloalquilo (C_6-C_{10}) está cada uno opcionalmente sustituido con uno o dos grupos independientemente seleccionados de halógeno, hidroxilo, alcoxi (C_1-C_4), alquilo (C_1-C_4) y halogenoalquilo (C_1-C_4). En otra realización, esta invención se refiere a compuestos de fórmula (I) en donde R^3 es alquilo (C_1-C_6), halogenoalquilo (C_1-C_6), cicloalquilo (C_3-C_5), o bicicloalquilo (C_6-C_{10}), en donde dicho cicloalquilo (C_3-C_5) o bicicloalquilo (C_6-C_{10}) está cada uno opcionalmente sustituido con uno o dos grupos

independientemente seleccionados de halógeno, hidroxilo, alcoxi (C₁-C₄), alquilo (C₁-C₄) y halogenoalquilo (C₁-C₄). En otra realización, esta invención se refiere a compuestos de fórmula (I) en donde R³ es alquilo (C₁-C₆), halogenoalquilo (C₁-C₆), cicloalquilo (C₃-C₅), o bicicloalquilo (C₆-C₁₀), en donde dicho cicloalquilo (C₃-C₅) o bicicloalquilo (C₆-C₁₀) está

5 cada uno opcionalmente sustituido con uno o dos grupos independientemente seleccionados de halógeno y alquilo (C₁-C₄). En otra realización, esta invención se refiere a compuestos de fórmula (I) en donde R³ es alquilo (C₁-C₆), halogenoalquilo (C₁-C₆), cicloalquilo (C₃-C₅) o bicicloalquilo (C₆-C₁₀), en donde dicho cicloalquilo (C₃-C₅) o bicicloalquilo (C₆-C₁₀) está cada uno opcionalmente sustituido con fluoro o metilo. En otra

10 realización, esta invención se refiere a compuestos de fórmula (I) en donde R³ es alquilo (C₁-C₆) o halogenoalquilo (C₁-C₆). En otra realización, esta invención se refiere a compuestos de fórmula (I) en donde R³ es alquilo (C₁-C₄). En otra realización, esta invención se refiere a compuestos de fórmula (I) en donde R³ es *terc*-butilo. En otra realización, esta invención se refiere a compuestos de fórmula (I) en donde R³ es

15 cicloalquilo (C₃-C₅) o bicicloalquilo (C₆-C₁₀), cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con uno o dos grupos independientemente seleccionados de halógeno y alquilo (C₁-C₄). En otra realización, esta invención se refiere a compuestos de fórmula (I) en donde R³ es cicloalquilo (C₃-C₅) o bicicloalquilo (C₆-C₁₀), cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con fluoro o metilo. En otra realización, esta invención se refiere

20 a compuestos de fórmula (I) en donde R³ es cicloalquilo (C₃-C₅) que está opcionalmente sustituido con fluoro o metilo. En otra realización, esta invención se refiere a compuestos de fórmula (I) en donde R³ es cicloalquilo (C₃-C₅) que está opcionalmente sustituido con metilo. En otra realización, esta invención se refiere a compuestos de fórmula (I) en donde R³ es ciclobutilo que está opcionalmente sustituido con metilo.

25 Compuestos específicos de esta invención incluyen:

(*R*)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-neopentilpiperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4*H*-tieno[3,2-*c*]azepin-4-ona;

(*R*)-2-(1-(1-(ciclobutilmetil)piperidin-4-il)etil)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-5,6,7,8-tetrahidro-4*H*-tieno[3,2-*c*]azepin-4-ona;

30 (*R*)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-(1-(1-isobutilpiperidin-4-il)etil)-3-metil-5,6,7,8-tetrahidro-4*H*-tieno[3,2-*c*]azepin-4-ona;

(R) -2-(1-(1-(ciclopentilmetil)piperidin-4-il)etil)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-5,6,7,8-tetrahidro-4*H*-tieno[3,2-*c*]azepin-4-ona;
 (R) -5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-(1-(1-(2,2-dimetilbutil)piperidin-4-il)etil)-3-metil-5,6,7,8-tetrahidro-4*H*-tieno[3,2-*c*]azepin-4-ona;
5 (R) -5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-(1-(1-(2-fluoro-2-metilpropil)piperidin-4-il)etil)-3-metil-5,6,7,8-tetrahidro-4*H*-tieno[3,2-*c*]azepin-4-ona;
 (R) -2-(1-(1-(ciclopropilmetil)piperidin-4-il)etil)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-5,6,7,8-tetrahidro-4*H*-tieno[3,2-*c*]azepin-4-ona;
 (R) -5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-((1-metilciclopentil)metil)piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4*H*-tieno[3,2-*c*]azepin-4-ona;
10 (R) -2-(1-(1-(biciclo[2.2.2]octan-1-ilmetil)piperidin-4-il)etil)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-5,6,7,8-tetrahidro-4*H*-tieno[3,2-*c*]azepin-4-ona;
 (R) -5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-((1-metilciclobutil)metil)piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4*H*-tieno[3,2-*c*]azepin-4-ona; y
15 (R) -5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-((1-metilciclopropil)metil)piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4*H*-tieno[3,2-*c*]azepin-4-ona;
o sus sales farmacéuticamente aceptables.

Típicamente, pero no de forma absoluta, las sales de la presente invención son sales farmacéuticamente aceptables. Las sales de los compuestos descritos que contienen
20 una amina básica u otro grupo funcional básico se pueden preparar por cualquier método adecuado conocido en la técnica, que incluye el tratamiento de la base libre con un ácido inorgánico, tal como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico, y similares, o con un ácido orgánico, tal como ácido acético, ácido trifluoroacético, ácido maleico, ácido succínico, ácido mandélico, ácido fumárico, ácido
25 malónico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido glicólico, ácido salicílico, ácido piranosidilo, tal como ácido glucurónico o ácido galacturónico, alfa-hidroxiácido, tal como ácido cítrico o ácido tartárico, aminoácido, tal como ácido aspártico o ácido glutámico, ácido aromático, tal como ácido benzoico o ácido cinámico, ácido sulfónico, tal como ácido *p*-toluenosulfónico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico o similares. Los
30 ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen sulfatos, piro-sulfatos, bisulfatos, sulfitos, bisulfitos, fosfatos, cloruros, bromuros, yoduros, acetatos, propionatos, decanoatos, caprilatos, acrilatos, formiatos, isobutiratos, caproatos, heptanoatos,

propiolatos, oxalatos, malonatos succinatos, suberatos, sebazatos, fumaratos, maleatos, butino-1,4-dioatos, hexino-1,6-dioatos, benzoatos, clorobenzoatos, metilbenzoatos, dinitrobenzoatos, hidroxibenzoatos, metoxibenzoatos, ftalatos, fenilacetatos, fenilpropionatos, fenilbutratos, citratos, lactatos, γ -hidroxibutiratos, glicolatos, tartratos, mandelatos, y sulfonatos, tales como xilenosulfonatos, metanosulfonatos, propanosulfonatos, naftaleno-1-sulfonatos y naftaleno-2-sulfonatos.

Las sales de los compuestos descritos que contienen un ácido carboxílico u otro grupo funcional ácido se pueden preparar por reacción con una base adecuada. Dicha sal farmacéuticamente aceptable se puede hacer con una base que proporciona un catión farmacéuticamente aceptable, que incluye sales de metal alcalino (en especial sodio y potasio), sales de metales alcalinotérreos (en especial calcio y magnesio), sales de aluminio y sales de amonio, así como sales hechas de bases orgánicas fisiológicamente aceptables tales como trimetilamina, trietilamina, morfolina, piridina, piperidina, picolina, díciclohexilamina, *N,N'*-dibenciletilendiamina, 2-hidroxietilamina, *bis*-(2-hidroxietil)amina, tri-(2-hidroxietil)amina, procaína, dibencilpiperidina, dedhidroabietilamina, *N,N'*-bisdedhidroabietilamina, glucamina, *N*-metilglucamina, colidina, quinina, quinolina, y aminoácido básico tal como lisina y arginina.

Otras sales, que no son farmacéuticamente aceptables, pueden ser útiles en la preparación de compuestos de esta invención, y debe considerarse que estas forman un aspecto de la invención. Estas sales, tales como de ácido oxálico o trifluoroacetato, aunque no son farmacéuticamente aceptables por sí mismas, pueden ser útiles en la preparación de sales útiles como compuestos intermedios en la obtención de los compuestos de la invención y sus sales farmacéuticamente aceptables.

Los compuestos de fórmula (I) pueden existir en una forma cristalina o no cristalina, o una mezcla de las mismas. El experto en la materia apreciará que se pueden formar solvatos farmacéuticamente aceptables para compuestos cristalinos o no cristalinos. En los solvatos cristalinos, las moléculas de disolvente se incorporan en la red cristalina durante la cristalización. Los solvatos pueden implicar disolventes no acuosos tales como, pero no limitado a etanol, isopropanol, DMSO, ácido acético, etanolamina, o acetato de etilo, o pueden implicar agua como el disolvente que se incorpora en la red cristalina. Los solvatos en donde el disolvente incorporado en la red cristalina es agua se denominan típicamente “hidratos”. Los hidratos incluyen hidratos estequiométricos así como

composiciones que contienen cantidades variables de agua. La invención incluye todos dichos solvatos.

El experto en la materia apreciará además que los compuestos de la invención que existen en forma cristalina, incluyendo los diferentes solvatos de los mismos, pueden
5 presentar polimorfismo (es decir, la capacidad para encontrarse en diferentes estructuras cristalinas). Estas diferentes formas cristalinas se conocen típicamente como “polimorfos. La invención incluye todos dichos polimorfos. Los polimorfos tienen la misma composición química pero difieren en el empaquetamiento, disposición geométrica y otras propiedades descriptivas del estado sólido cristalino. Por lo tanto, los polimorfos pueden
10 tener diferentes propiedades físicas tales como forma, densidad, dureza, deformabilidad, estabilidad y propiedades de disolución. Los polimorfos típicamente presentan diferentes puntos de fusión, espectros de IR, patrones de difracción de rayos X de polvo, que se pueden usar para la identificación. El experto en la materia apreciará que se pueden producir diferentes polimorfos, por ejemplo, cambiando y ajustando las condiciones de
15 reacción o reactivos, usados para hacer los compuestos. Además, un polimorfo se puede convertir espontáneamente en otro polimorfo en determinadas condiciones.

La presente invención se dirige además a formas cristalinas de la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-neopentilpiperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona.

20 En algunas realizaciones, una forma cristalina de la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-neopentilpiperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) que comprende al menos nueve ángulos de difracción, cuando se mide usando la radiación K_{α} del Cu, seleccionados de un grupo que
25 consiste en aproximadamente 4,5, 7,7, 8,9, 9,5, 10,7, 12,7, 13,4, 14,3, 14,8, 14,9, 15,3, 15,7, 16,3, 16,9, 17,4, 18,3, 18,6, 19,1, 21,9, 22,4, 23,1, 24,0, 24,4, 25,0, 25,6, 26,9, 27,7, 28,8 y 29,4 grados 2θ . En otra realización, la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-neopentilpiperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona se caracteriza por un patrón de difracción
30 de rayos X de polvo (XRPD) que comprende al menos ocho ángulos de difracción o al menos siete ángulos de difracción o al menos seis ángulos de difracción o al menos cinco ángulos de difracción o al menos cuatro ángulos de difracción, cuando se mide usando la

radiación K_{α} del Cu, seleccionados de un grupo que consiste en aproximadamente 4,5, 7,7, 8,9, 9,5, 10,7, 12,7, 13,4, 14,3, 14,8, 14,9, 15,3, 15,7, 16,3, 16,9, 17,4, 18,3, 18,6, 19,1, 21,9, 22,4, 23,1, 24,0, 24,4, 25,0, 25,6, 26,9, 27,7, 28,8 y 29,4 grados 2θ . En otra realización, la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-neopentilpiperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) que comprende al menos tres ángulos de difracción, cuando se mide usando la radiación K_{α} del Cu, seleccionados de un grupo que consiste en aproximadamente 4,5, 7,7, 8,9, 9,5, 10,7, 12,7, 13,4, 14,3, 14,8, 14,9, 15,3, 15,7, 16,3, 16,9, 17,4, 18,3, 18,6, 19,1, 21,9, 22,4, 23,1, 24,0, 24,4, 25,0, 25,6, 26,9, 27,7, 28,8 y 29,4 grados 2θ .

En otra realización más, la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-neopentilpiperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) que comprende ángulos de difracción, cuando se mide usando la radiación K_{α} del Cu, de aproximadamente 8,9, 10,7, 14,3, 14,8, 16,9 y 24,0 grados 2θ . En otra realización más, la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-neopentilpiperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) sustancialmente de acuerdo con la figura 1.

En otras realizaciones, la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-neopentilpiperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona se caracteriza por un espectro de Raman que comprende al menos doce picos en posiciones seleccionadas de un grupo que consiste en picos a aproximadamente 455, 479, 505, 534, 542, 565, 612, 693, 758, 791, 854, 995, 1047, 1114, 1148, 1209, 1241, 1279, 1315, 1390, 1438, 1473, 1551, 1628, 1655, 2735, 2917 y 2953 cm^{-1} . En otra realización, la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-neopentilpiperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona se caracteriza por un espectro de Raman que comprende al menos once picos o al menos diez picos o al menos nueve picos o al menos ocho picos o al menos siete picos en posiciones seleccionadas de un grupo que consiste en picos a aproximadamente 455, 479, 505, 534, 542, 565, 612, 693, 758, 791, 854, 995, 1047, 1114, 1148, 1209, 1241, 1279, 1315, 1390, 1438, 1473, 1551, 1628, 1655, 2735,

2917 y 2953 cm^{-1} . En otra realización, la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-neopentilpiperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahydro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona se caracteriza por un espectro de Raman que comprende al menos seis picos en posiciones seleccionadas de un grupo que consiste en
5 picos a aproximadamente 455, 479, 505, 534, 542, 565, 612, 693, 758, 791, 854, 995, 1047, 1114, 1148, 1209, 1241, 1279, 1315, 1390, 1438, 1473, 1551, 1628, 1655, 2735, 2917 y 2953 cm^{-1} .

En otra realización más, la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-neopentilpiperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahydro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona se caracteriza por un espectro de Raman que comprende picos a aproximadamente 505, 534, 612, 1241, 1315, 1390, 1438, 1473, 1551, 1628, 2917 y 2953 cm^{-1} . En otra realización más, la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-neopentilpiperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahydro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona se caracteriza por un espectro de
10 Raman sustancialmente de acuerdo con la figura 2.

En realizaciones adicionales, la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-neopentilpiperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahydro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona se caracteriza por una señal de calorimetría diferencial de barrido sustancialmente de acuerdo con la figura 3 y/o una señal de análisis
20 termogravimétrico sustancialmente de acuerdo con la figura 4.

En otras realizaciones más, como comprenderá el experto en la materia, la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-neopentilpiperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahydro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona se caracteriza por cualquier combinación de los datos analíticos que caracterizan las
25 realizaciones mencionadas antes. Por ejemplo, en una realización, la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-neopentilpiperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahydro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) sustancialmente de acuerdo con la figura 1 y un espectro de Raman sustancialmente de acuerdo con la figura 2 y una señal
30 de calorimetría diferencial de barrido sustancialmente de acuerdo con la figura 3 y una señal de análisis termogravimétrico sustancialmente de acuerdo con la figura 4. En otra realización, la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-

il)metil)-3-metil-2-(1-(1-neopentilpiperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) sustancialmente de acuerdo con la figura 1 y un espectro de Raman sustancialmente de acuerdo con la figura 2. En otra realización, la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-

5 dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-neopentilpiperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) sustancialmente de acuerdo con la figura 1 y una señal de calorimetría diferencial de barrido sustancialmente de acuerdo con la figura 3. En otra

10 realización, la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-neopentilpiperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) sustancialmente de acuerdo con la figura 1 y una señal de análisis termogravimétrico sustancialmente de acuerdo con la figura 4. En otra realización, la sal de ácido clorhídrico

15 de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-neopentilpiperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) que comprende ángulos de difracción, cuando se mide usando la radiación K_{α} del Cu, de aproximadamente 8,9, 10,7, 14,3, 14,8, 16,9 y 24,0 grados 2θ , y un espectro de Raman que comprende picos a

20 aproximadamente 505, 534, 612, 1241, 1315, 1390, 1438, 1473, 1551, 1628, 2917 y 2953 cm^{-1} . En otra realización, la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-neopentilpiperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) que comprende ángulos de difracción, cuando se mide usando la radiación K_{α} del Cu, de aproximadamente 8,9, 10,7, 14,3, 14,8, 16,9 y 24,0 grados 2θ , y una señal de

25 calorimetría diferencial de barrido sustancialmente de acuerdo con la figura 3. En otra realización, la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-neopentilpiperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) que

30 comprende ángulos de difracción, cuando se mide usando la radiación K_{α} del Cu, de aproximadamente 8,9, 10,7, 14,3, 14,8, 16,9 y 24,0 grados 2θ , y una señal de análisis termogravimétrico sustancialmente de acuerdo con la figura 4.

La presente invención se dirige además a formas cristalinas de la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-((1-metilciclobutil)metil)piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona.

5 En algunas realizaciones, una forma cristalina de la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-((1-metilciclobutil)metil)piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) que comprende al menos nueve ángulos de difracción, cuando se mide usando la radiación K_{α} del Cu, seleccionados de un grupo que consiste en aproximadamente 8,1, 10,2, 11,2, 12,4, 12,8, 13,8, 15,3, 15,5, 16,0, 17,2, 18,3, 18,8, 19,4, 19,8, 20,6, 22,4, 23,8, 24,4, 24,9, 25,6, 26,4 y 27,4 grados 2θ . En otra realización, la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-((1-metilciclobutil)metil)piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) que comprende al menos ocho ángulos de difracción o al menos siete ángulos de difracción o al menos seis ángulos de difracción o al menos cinco ángulos de difracción o al menos cuatro ángulos de difracción, cuando se mide usando la radiación K_{α} del Cu, seleccionados de un grupo que consiste en aproximadamente 8,1, 10,2, 11,2, 12,4, 12,8, 13,8, 15,3, 15,5, 16,0, 17,2, 18,3, 18,8, 19,4, 19,8, 20,6, 22,4, 23,8, 24,4, 24,9, 25,6, 26,4 y 27,4 grados 2θ . En otra realización, la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-((1-metilciclobutil)metil)piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) que comprende al menos tres ángulos de difracción, cuando se mide usando la radiación K_{α} del Cu, seleccionados de un grupo que consiste en aproximadamente 8,1, 10,2, 11,2, 12,4, 12,8, 13,8, 15,3, 15,5, 16,0, 17,2, 18,3, 18,8, 19,4, 19,8, 20,6, 22,4, 23,8, 24,4, 24,9, 25,6, 26,4 y 27,4 grados 2θ .

En otra realización más, la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-((1-metilciclobutil)metil)piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) que comprende ángulos de difracción, cuando se mide usando la radiación K_{α} del Cu, de aproximadamente 11,2, 13,8, 15,5, 18,8, 19,4 y 22,4

grados 2 θ . En otra realización más, la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-((1-metilciclobutil)metil)piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) sustancialmente de acuerdo con la figura 5.

5 En otras realizaciones, la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-((1-metilciclobutil)metil)piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona se caracteriza por un espectro de Raman que comprende al menos doce picos en posiciones seleccionadas de un grupo que consiste en picos a aproximadamente 436, 480, 511, 538, 550, 566, 611, 683, 776, 814, 852, 887,
10 925, 986, 1050, 1140, 1169, 1227, 1252, 1277, 1313, 1338, 1373, 1391, 1428, 1462, 1482, 1553, 1620, 2865, 2922, 2955 y 2973 cm⁻¹. En otra realización, la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-((1-metilciclobutil)metil)piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona se caracteriza por un espectro de Raman que comprende al menos once picos o al menos diez
15 picos o al menos nueve picos o al menos ocho picos o al menos siete picos en posiciones seleccionadas de un grupo que consiste en picos a aproximadamente 436, 480, 511, 538, 550, 566, 611, 683, 776, 814, 852, 887, 925, 986, 1050, 1140, 1169, 1227, 1252, 1277, 1313, 1338, 1373, 1391, 1428, 1462, 1482, 1553, 1620, 2865, 2922, 2955 y 2973 cm⁻¹. En otra realización, la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-
20 dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-((1-metilciclobutil)metil)piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona se caracteriza por un espectro de Raman que comprende al menos seis picos en posiciones seleccionadas de un grupo que consiste en picos a aproximadamente 436, 480, 511, 538, 550, 566, 611, 683, 776, 814, 852, 887, 925, 986, 1050, 1140, 1169, 1227, 1252, 1277, 1313, 1338, 1373, 1391, 1428, 1462, 1482,
25 1553, 1620, 2865, 2922, 2955 y 2973 cm⁻¹.

En otra realización todavía, la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-((1-metilciclobutil)metil)piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona se caracteriza por un espectro de Raman que comprende picos a aproximadamente 611, 1169, 1227, 1277, 1313, 1482,
30 1553, 1620, 2922 y 2955 cm⁻¹. En otra realización más, la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-((1-

metilciclobutil)metil)piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahydro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona se caracteriza por un espectro de Raman sustancialmente de acuerdo con la figura 6.

En realizaciones adicionales, la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-((1-metilciclobutil)metil)piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahydro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona se caracteriza por una señal de calorimetría diferencial de barrido sustancialmente de acuerdo con la figura 7 y/o una señal de análisis termogravimétrico sustancialmente de acuerdo con la figura 8.

En otras realizaciones más, como comprenderá el experto en la materia, la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-((1-metilciclobutil)metil)piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahydro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona se caracteriza por cualquier combinación de los datos analíticos que caracterizan las realizaciones mencionadas antes. Por ejemplo, en una realización, la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-((1-metilciclobutil)metil)piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahydro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) sustancialmente de acuerdo con la figura 5 y un espectro de Raman sustancialmente de acuerdo con la figura 6 y una señal de calorimetría diferencial de barrido sustancialmente de acuerdo con la figura 7 y una señal de análisis termogravimétrico sustancialmente de acuerdo con la figura 8. En otra realización, la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-((1-metilciclobutil)metil)piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahydro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) sustancialmente de acuerdo con la figura 5 y un espectro de Raman sustancialmente de acuerdo con la figura 6. En otra realización, la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-((1-metilciclobutil)metil)piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahydro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) sustancialmente de acuerdo con la figura 5 y una señal de calorimetría diferencial de barrido sustancialmente de acuerdo con la figura 7. En otra realización, la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-((1-metilciclobutil)metil)piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahydro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) sustancialmente de acuerdo con la figura 5 y una señal de análisis termogravimétrico sustancialmente de

acuerdo con la figura 8. En otra realización, la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-((1-metilciclobutil)metil)piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) que comprende

5 ángulos de difracción, cuando se mide usando la radiación K_{α} del Cu, de aproximadamente 11,2, 13,8, 15,5, 18,8, 19,4 y 22,4 grados 2θ , y un espectro de Raman que comprende picos a aproximadamente 611, 1169, 1227, 1277, 1313, 1482, 1553, 1620, 2922 y 2955 cm^{-1} . En otra realización, la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-((1-metilciclobutil)metil)piperidin-4-il)etil)-

10 5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) que comprende ángulos de difracción, cuando se mide usando la radiación K_{α} del Cu, de aproximadamente 11,2, 13,8, 15,5, 18,8, 19,4 y 22,4 grados 2θ , y una señal de calorimetría diferencial de barrido sustancialmente de acuerdo con la figura 7. En otra realización, la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-((1-metilciclobutil)metil)piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) que comprende ángulos de difracción, cuando se mide usando la radiación K_{α} del Cu, de aproximadamente 11,2, 13,8, 15,5, 18,8, 19,4 y 22,4 grados 2θ , y una señal de análisis termogravimétrico sustancialmente de acuerdo con

15 la figura 8.

Se entenderá que un patrón de XRPD comprende un ángulo de difracción (expresado en grados 2θ) de “aproximadamente” un valor especificado en la presente memoria, cuando el patrón de XRPD comprende un ángulo de difracción dentro de $\pm 0,3$ grados 2θ del valor especificado. Además, los expertos en la materia saben bien y

25 entienden que el aparato usado, la humedad, temperatura, orientación de los cristales de polvo y otros parámetros implicados en la obtención del patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) pueden producir alguna variabilidad en el aspecto, intensidades y posiciones de las líneas del patrón de difracción. Un patrón de difracción de rayos X de polvo que está “sustancialmente de acuerdo” con el de la figura 1 o 5 proporcionadas en la presente

30 memoria, es un patrón de XRPD que un experto en la materia consideraría que representa un compuesto que tiene la misma forma cristalina que el compuesto que proporciona el patrón de XRPD de la figura 1 o 5. Es decir, el patrón de XRPD puede ser idéntico al de la

figura 1 o 5, o más probablemente puede ser algo diferente. Dicho patrón de XRPD puede no mostrar necesariamente todas las líneas de uno cualquiera de los patrones de difracción presentados en la presente memoria, y/o puede mostrar un pequeño cambio de aspecto, intensidad o un desplazamiento en la posición de dichas líneas, que resultan de diferencias en las condiciones implicadas en la obtención de los datos. Un experto en la materia puede determinar si una muestra de un compuesto cristalino tiene la misma forma, o una forma diferente de una forma descrita en la presente memoria, por comparación de sus patrones de XRPD. Por ejemplo, un experto en la materia puede superponer un patrón de XRPD de una muestra de la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-neopentilpiperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona, con la figura 1, y usando la experiencia y el conocimiento en la materia, determinar fácilmente si el patrón de XRPD de la muestra está sustancialmente de acuerdo con el patrón de XRPD de la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-neopentilpiperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona (Forma II) descrita en la presente memoria. Si el patrón de XRPD está sustancialmente de acuerdo con la figura 1, se puede identificar fácilmente y con precisión que la forma de la muestra tiene la misma forma que la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-neopentilpiperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona (Forma II) descrita en la presente memoria. Igualmente, si un patrón de XRPD de una muestra de la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-((1-metilciclobutil)metil)piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona está sustancialmente de acuerdo con la figura 5, se puede identificar fácilmente y con precisión que la forma de la muestra tiene la misma forma que la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-((1-metilciclobutil)metil)piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona (Forma I) descrita en la presente memoria.

Se entenderá que un espectro de Raman comprende un pico (expresado en cm^{-1}) de “aproximadamente” un valor especificado en la presente memoria, cuando el espectro de Raman comprende un pico dentro de $\pm 5,0 \text{ cm}^{-1}$ el valor especificado. Además, los expertos en la materia también saben bien y entienden que el aparato usado, la humedad, temperatura, orientación de los cristales de polvo y otros parámetros implicados en la

obtención de un espectro de Raman pueden producir alguna variabilidad en el aspecto, intensidades y las posiciones de los picos en el espectro. Un espectro de Raman que está “sustancialmente de acuerdo” con el de la figura 2 o 6 proporcionadas en la presente memoria, es un espectro de Raman que el experto en la materia consideraría que representa un compuesto que tiene la misma forma cristalina que el compuesto que proporcionó el espectro de Raman de la figura 2 o 6. Es decir, el espectro de Raman puede ser idéntico al de la figura 2 o 6, o más probablemente puede ser algo diferente. Dicho espectro de Raman puede no mostrar necesariamente todos los picos de uno cualquiera de los espectros presentados en la presente memoria, y/o puede mostrar un cambio ligero en el aspecto, intensidad o un desplazamiento en la posición de dichos picos que resulta de diferencias en las condiciones implicadas en la obtención de datos. Un experto en la materia es capaz de determinar si una muestra de un compuesto cristalino tiene la misma forma, o una forma diferente, de una forma descrita en la presente memoria por comparación de sus espectros de Raman. Por ejemplo, un experto en la materia puede superponer un espectro de Raman de una muestra de la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-neopentilpiperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona, con la figura 2 y, usando la experiencia y el conocimiento en la materia, determinar fácilmente si el espectro de Raman de la muestra está sustancialmente de acuerdo con el espectro de Raman de la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-neopentilpiperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona (Forma II) descrita en la presente memoria. Igualmente, si el espectro de Raman está sustancialmente de acuerdo con la figura 6, se puede identificar fácilmente y con precisión que la forma de la muestra tiene la misma forma que la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-((1-metilciclobutil)metil)piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona (Forma I) descrita en la presente memoria.

El compuesto de fórmula (I) o una de sus sales, puede existir en formas estereoisómeras (p. ej., contiene uno o más átomos de carbono asimétricos). Los estereoisómeros individuales (enantiómeros y diastereoisómeros) y mezclas de estos, están incluidos dentro del alcance de la presente invención. Igualmente, se entiende que un compuesto o sal de fórmula (I) puede existir en formas tautómeras distintas de las mostradas en la fórmula y estas están también incluidas dentro del alcance de la presente

invención. Debe entenderse que la presente invención incluye todas las combinaciones y subconjuntos de los grupos particulares definidos en lo que antecede. El alcance de la presente invención incluye mezclas de estereoisómeros así como enantiómeros purificados o mezclas enantiomérica/diastereoisómericamente enriquecidas. Debe entenderse que la

5 presente invención incluye todas las combinaciones y subconjuntos de los grupos particulares definidos en lo que antecede.

La presente invención también incluye compuestos marcados con isótopos, que son idénticos a los citados en la fórmula (I) y siguientes, salvo por el hecho de que uno o más átomos son sustituidos por un átomo que tiene una masa atómica o número de masa

10 diferente de la masa atómica o número de masa encontrado normalmente en la naturaleza. Los ejemplos de isótopos que se pueden incorporar en compuestos de la invención y sus sales farmacéuticamente aceptables incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, azufre, flúor, cloro y yodo, tales como ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{17}O , ^{18}O , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{18}F , ^{36}Cl , ^{123}I y ^{125}I .

15 Los compuestos de la presente invención y sales farmacéuticamente aceptables de dichos compuestos que contienen los isótopos mencionados antes y/o otros isótopos de otros átomos, están dentro del alcance de la presente invención. Los compuestos marcados con isótopos de la presente invención, por ejemplo, aquellos en los que se incorporan isótopos radiactivos tales como ^3H , ^{14}C , son útiles en ensayos de distribución tisular de

20 fármacos y/o sustratos. Los isótopos tritados, es decir ^3H , y de carbono-14, son particularmente preferidos por su facilidad de preparación y detectabilidad. Los isótopos de ^{11}C y ^{18}F son particularmente útiles en PET (tomografía por emisión de positrones), y los isótopos de ^{125}I son particularmente útiles en SPECT (tomografía computarizada por emisión de fotón único), todos útiles en la generación de imágenes del cerebro. Además, la

25 sustitución con isótopos más pesados tales como el deuterio, es decir, ^2H , puede proporcionar algunas ventajas terapéuticas que resultan de la mayor estabilidad metabólica, por ejemplo, mayor semivida in vivo o menores requisitos de dosificación, y, por lo tanto, pueden ser preferidos en algunas circunstancias. Los compuestos de fórmula (I) marcados con isótopos y siguientes de esta invención, se pueden preparar en general, llevando a cabo

30 los procedimientos descritos en los siguientes esquemas y/o ejemplos, sustituyendo un reactivo no marcado con isótopos por un reactivo marcado con isótopos fácilmente disponible.

La invención además proporciona una composición farmacéutica (también denominada formulación farmacéutica) que comprende un compuesto de fórmula (I) o su sal farmacéuticamente aceptable y uno o más excipientes (también denominados vehículos y/o diluyentes en la técnica farmacéutica). Los excipientes son aceptables en el sentido de
5 ser compatibles con los otros ingredientes de la formulación y no perjudiciales para su receptor (es decir, el paciente).

Los excipientes farmacéuticamente aceptables variarán dependiendo de la forma farmacéutica particular elegida. Además, se pueden elegir excipientes farmacéuticamente aceptables para una función particular para la que pueden servir en la composición. Por
10 ejemplo, algunos excipientes farmacéuticamente aceptables se pueden elegir por su capacidad para facilitar la producción de formas farmacéuticas uniformes. Algunos excipientes farmacéuticamente aceptables se pueden elegir por su capacidad para facilitar la producción de formas farmacéuticas estables. Algunos excipientes farmacéuticamente
15 aceptables se pueden elegir por su capacidad para facilitar el llevar o transportar el compuesto o compuestos de la invención, una vez administrados al paciente, desde un órgano, o parte del cuerpo, a otro órgano, o parte del cuerpo. Algunos excipientes farmacéuticamente aceptables se pueden elegir por su capacidad para potenciar la observancia del paciente.

Los excipientes farmacéuticamente aceptables incluyen los siguientes tipos de
20 excipientes: diluyentes, cargas, aglutinantes, disgregantes, lubricantes, deslizantes, agentes de granulación, agentes de recubrimiento, agentes humectantes, disolventes, codisolventes, agentes de suspensión, emulsionantes, edulcorantes, agentes de sabor, agentes para enmascarar el sabor, agentes colorantes, agentes antiapelmazantes, humectantes, agentes quelantes, plastificantes, agentes que aumentan la viscosidad, antioxidantes, conservantes,
25 estabilizantes, tensioactivos y agentes de tamponamiento. El experto en la materia observará que algunos excipientes farmacéuticamente aceptables pueden servir para más de una función y pueden servir para funciones alternativas dependiendo de cuánto excipiente está presente en la formulación y qué otros ingredientes están presentes en la formulación.

Los expertos en la materia tienen el conocimiento y la experiencia en la técnica
30 para poder seleccionar los excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados en cantidades adecuadas para usar en la invención. Además, hay una serie de recursos disponibles para el experto en la materia, que describen los excipientes farmacéuticamente

aceptables y pueden ser útiles en la selección de excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados. Los ejemplos incluyen Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Company), The Handbook of Pharmaceutical Additives (Gower Publishing Limited), y The Handbook of Pharmaceutical Excipients (the American Pharmaceutical Association and the Pharmaceutical Press).

Las composiciones farmacéuticas de la invención se preparan usando técnicas y métodos conocidos para los expertos en la materia. Algunos de los métodos usados habitualmente en la técnica se describen en Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Company).

Las composiciones farmacéuticas pueden estar en forma de dosis unitaria que contiene una cantidad predeterminada del principio activo por dosis unitaria. Dicha unidad puede contener una dosis terapéuticamente eficaz del compuesto de fórmula (I) o su sal, o una fracción de una dosis terapéuticamente eficaz, de modo que se pueden administrar múltiples formas farmacéuticas unitarias en un momento dado para lograr la dosis terapéuticamente eficaz deseada. Las formulaciones de dosis unitaria preferidas son las que contienen una dosis diaria o subdosis, como se ha mencionado antes en la presente memoria, o una fracción adecuada de la misma, de un principio activo. Además, dichas composiciones farmacéuticas se pueden preparar por cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica de la farmacia.

Las composiciones farmacéuticas se pueden adaptar para la administración por cualquier vía adecuada, por ejemplo, por vía oral (que incluye bucal o sublingual), rectal, nasal, tópica (que incluye bucal, sublingual o transdérmica), vaginal o parenteral (que incluye subcutánea, intramuscular, intravenosa o intradérmica). Dichas composiciones se pueden preparar por cualquier método conocido en la técnica farmacéutica, por ejemplo, mediante asociación del principio activo con el o los excipientes.

Cuando está adaptado para la administración oral, las composiciones farmacéuticas pueden estar en unidades discretas tales como comprimidos o cápsulas; polvos o gránulos; disoluciones o suspensiones en líquidos acuosos o no acuosos; espumas o batidos comestibles; emulsiones líquidas de aceite en agua o emulsiones líquidas de agua en aceite.

El compuesto o su sal de la invención o la composición farmacéutica de la invención, también se puede incorporar a un caramelo, una oblea y/o formulación de banda para la lengua, para la administración como un medicamento de “disolución rápida”.

Por ejemplo, para la administración oral en forma de un comprimido o cápsula, el componente de fármaco activo se puede combinar con un vehículo oral, inerte farmacéuticamente aceptable, no tóxico, tal como etanol, glicerol, agua y similares. Los polvos o gránulos se preparan moliendo el compuesto hasta un tamaño fino adecuado y
5 mezclando con un vehículo farmacéutico molido de forma similar, tal como un hidrato de carbono comestible, como por ejemplo, almidón o manitol. También pueden estar presentes agentes de sabor, conservantes, dispersantes y colorantes.

Las cápsulas se hacen preparando una mezcla en polvo, como se ha descrito antes, y llenando las cubiertas de gelatina o no gelatinosas formadas. Se pueden añadir
10 deslizantes y lubricantes tales como sílice coloidal, talco, estearato magnésico, estearato de calcio, polietilenglicol sólido, a la mezcla en polvo antes de la operación de llenado. También se puede añadir un agente disgregante o solubilizante tal como agar-agar, carbonato de calcio o carbonato de sodio, para mejorar la disponibilidad del medicamento cuando se ingiere la cápsula.

Además, cuando se desee o sea necesario, también se pueden incorporar en la
15 mezcla aglutinantes, lubricantes, agentes disgregantes y agentes colorantes adecuados. Los aglutinantes adecuados incluyen almidón, gelatina, azúcares naturales, tales como glucosa o beta-lactosa, edulcorantes de maíz, gomas naturales y sintéticas tales como goma arábica, tragacanto, alginato sódico, carboximetilcelulosa, polietilenglicol, ceras, y similares. Los
20 lubricantes usados en estas formas farmacéuticas incluyen oleato sódico, estearato sódico, estearato magnésico, benzoato sódico, acetato sódico, cloruro sódico, y similares. Los disgregantes incluyen, sin limitación, almidón, metilcelulosa, agar, bentonita, goma de xantano, y similares.

Los comprimidos se formulan, por ejemplo, por preparación de una mezcla en
25 polvo, granulación o doble compresión, adición de un lubricante y disgregante, y compresión en comprimidos. Una mezcla en polvo se prepara mezclando el compuesto, adecuadamente molido, con un diluyente o base como se ha descrito antes, y opcionalmente, con un aglutinante tal como carboximetilcelulosa, y alginato, gelatina o polivinilpirrolidona, una retardante de disolución tal como parafina, un acelerador de la
30 resorción tal como una sal cuaternaria, y/o un agente de la absorción tal como bentonita, caolín o fosfato dicálcico. La mezcla en polvo se puede granular por humectación con un aglutinante como jarabe, pasta de almidón, mucílago de goma arábica, o disoluciones de

materiales celulósicos o poliméricos , y forzar a través de un tamiz. Como una alternativa a la granulación, la mezcla en polvo se puede pasar por una máquina de comprimidos y el resultado son lingotes imperfectamente formados que se rompen en gránulos. Los gránulos se pueden lubricar para prevenir que se peguen a los troqueles de formación de comprimidos, mediante la adición de ácido esteárico, una sal de estearato, talco o aceite mineral. La mezcla lubricada después se comprime en comprimidos. El compuesto o sal de la presente invención, se puede combinar también con un vehículo inerte fluido y comprimir en comprimidos directamente sin pasar por las etapas de granulación o doble compresión. Se puede proporcionar un recubrimiento protector opaco transparente que consiste en un recubrimiento de sellado de laca, un recubrimiento de azúcar o material polimérico y un recubrimiento brillante de cera. Se pueden añadir colorantes a estos recubrimientos para distinguir diferentes dosificaciones.

Se pueden preparar fluidos orales tales como soluciones, jarabes y elixires en forma de dosis unitaria de modo que una cantidad dada contiene una cantidad predeterminada de principio activo. Los jarabes se pueden preparar disolviendo el compuesto o sal del mismo de la invención en una solución acuosa aromatizada, mientras que los elixires se preparan usando un vehículo alcohólico no tóxico. Se pueden formular suspensiones dispersando el compuesto o sal de la invención en un vehículo no tóxico. También se pueden añadir solubilizantes y emulsionantes, tales como alcoholes isoestearílicos etoxilados y éteres de sorbitol polioxietilénicos, conservantes, aditivos de sabor tales como aceite de menta, edulcorantes naturales, sacarina u otros edulcorantes artificiales, y similares.

Cuando sea adecuado, las formulaciones de unidad de dosificación para la administración oral se pueden microencapsular. La formulación también se puede preparar para prolongar o mantener la liberación como, por ejemplo, por recubrimiento o inmersión de material en partículas en polímeros, cera, o similares.

En la presente invención, se prefieren comprimidos y cápsulas para suministrar la composición farmacéutica.

De acuerdo con otro aspecto de la invención, se proporciona un procedimiento para preparar una composición farmacéutica, que comprende mezclar (o combinar) un compuesto de fórmula (I) o sal del mismo, con al menos un excipiente.

La presente invención también proporciona un método de tratamiento en un mamífero, en especial un ser humano. Los compuestos y composiciones de la invención se usan para tratar enfermedades de proliferación celular. Las enfermedades que se pueden tratar por los métodos y composiciones proporcionados en la presente memoria incluyen, 5 pero no se limitan a cáncer (descrito con más detalle más adelante), enfermedad autoinmunitaria, trastornos fúngicos, artritis, rechazo de injerto, enfermedad intestinal inflamatoria, proliferación inducida después de procedimientos médicos que incluyen, pero no se limitan a cirugía, angioplastia y similares. Se observará que en algunos casos las células pueden no estar en un estado hiper o hipoproliferativo (estado anormal) y requieren 10 todavía tratamiento. Por ejemplo, durante la curación de heridas, las células pueden estar proliferando “normalmente”, pero puede desearse la potenciación de la proliferación. Por lo tanto, en una realización, la invención de la presente memoria incluye la aplicación a células o individuos aquejados o con riesgo de estar aquejados de uno o más de estos trastornos o estados.

15 Las composiciones y los métodos proporcionados en la presente memoria se consideran particularmente útiles para el tratamiento del cáncer que incluye tumores tales como de próstata, mama, cerebro, piel, carcinomas de cuello uterino, carcinomas testiculares, etc. Son particularmente útiles en el tratamiento de tumores metastáticos o malignos. Más en particular, los cánceres que se pueden tratar mediante las composiciones 20 y métodos de la invención incluyen, pero no se limitan a tipos de tumores tales como sarcomas y carcinomas astrocítico, de mama, cuello uterino, colorrectal, endometrio, esofágico, gástrico, cabeza y cuello, hepatocelular, laríngeo, pulmonar, oral, ovárico, prostático y tiroideo. Más específicamente, estos compuestos se pueden usar para tratamiento: Cardíaco: sarcoma (angiosarcoma, fibrosarcoma, rabdomiosarcoma, 25 liposarcoma), mixoma, rabdomioma, fibroma, lipoma y teratoma; Pulmonar: carcinoma broncogénico (células escamosas, células pequeñas indiferenciadas, células grandes indiferenciadas, adenocarcinoma), carcinoma alveolar (bronquiolar), adenoma bronquial, sarcoma, linfoma, hamartoma condromatoso, mesotelioma; Gastrointestinal: esófago (carcinoma de células escamosas, adenocarcinoma, leiomiosarcoma, linfoma), estómago 30 (carcinoma, linfoma, leiomiosarcoma), páncreas (adenocarcinoma ductal, insulinooma, glucagonoma, gastrinoma, tumores carcinoides, vipoma), intestino delgado (adenocarcinoma, linfoma, tumores carcinoides, sarcoma de Kaposi, leiomioma,

hemangioma, lipoma, neurofibroma, fibroma), intestino grueso (adenocarcinoma, adenoma tubular, adenoma vellosa, hamartoma, leiomioma); Tracto genitourinario: riñón (adenocarcinoma, tumor de Wilms (nefroblastoma), linfoma, leucemia), vejiga y uretra (carcinoma de células escamosas, carcinoma de células transicionales, adenocarcinoma),

5 próstata (adenocarcinoma, sarcoma), testículos (seminoma, teratoma, carcinoma embrionario, teratocarcinoma, coriocarcinoma, sarcoma, carcinoma de células intersticiales, fibroma, fibroadenoma, tumores adenomatoideos, lipoma); Hígado: hepatoma (carcinoma hepatocelular), colangiocarcinoma, hepatoblastoma, angiosarcoma, adenoma hepatocelular, hemangioma; Tracto biliar: carcinoma de vesícula biliar, carcinoma

10 ampollar, colangiocarcinoma; Hueso: sarcoma osteogénico (osteosarcoma), fibrosarcoma, histiocitoma fibroso maligno, condrosarcoma, sarcoma de Ewing, linfoma maligno (sarcoma de células reticulares), mieloma múltiple, cordoma tumor maligno de células gigantes, osteocronfoma (exostosis osteocartilaginosa), condroma benigno, condroblastoma, condromixofibroma, osteoma osteoide y tumores de células gigantes;

15 Sistema nervioso: cráneo (osteoma, hemangioma, granuloma, xantoma, osteítis deformante), meninges (meningioma, meningiosarcoma, gliomatosis), cerebro (astrocitoma, meduloblastoma, glioma, ependimoma, germinoma (pinealoma), glioblastoma multiforme, oligodendroglioma, schwannoma, retinoblastoma, tumores congénitos), neurofibroma de la médula espinal, meningioma, glioma, sarcoma);

20 Ginecológico: útero (carcinoma de endometrio), cuello uterino (carcinoma de cuello uterino, displasia de cuello uterino pretumoral), ovarios (carcinoma de ovario (cistoadenocarcinoma seroso, cistoadenocarcinoma mucinoso, carcinoma no clasificado), tumores de teca-granulosa, tumores de células de Sertoli-Leydig, disgerminoma, teratoma maligno), vulva (carcinoma de células escamosas, carcinoma intraepitelial,

25 adenocarcinoma, fibrosarcoma, melanoma), vagina (carcinoma de células claras, carcinoma de células escamosas, sarcoma botrioide (rhabdomyosarcoma embrionario), trompas de falopio (carcinoma); Hematológico: sangre (leucemia mieloide (aguda y crónica), leucemia linfoblástica aguda, leucemia linfoblástica crónica, enfermedades mieloproliferativas, mieloma múltiple, síndrome mielodisplásico), enfermedad de

30 Hodgkin, linfoma no Hodgkin (linfoma maligno, linfoma difuso de células B grandes (DLBCL), linfoma folicular); Piel: melanoma maligno, carcinoma de células basales, carcinoma de células escamosas, sarcoma de Kaposi, nevo displásico, lipoma, angioma,

dermatofibroma, queloides, psoriasis; y Glándulas suprarrenales: neuroblastoma. Por lo tanto, la expresión “célula cancerosa” como se proporciona en la presente memoria, incluye una célula aquejada de una cualquiera de las afecciones identificadas antes o relacionadas.

- 5 Los compuestos y composiciones de la invención también se pueden usar para tratar o curar la infección por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH). En una realización, se proporciona un método para tratar la infección por el VIH, que comprende administrar a un paciente con VIH una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables. En otra realización, se
- 10 proporciona un método para curar la infección por el VIH que comprende administrar a un paciente con VIH una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables. En otra realización, se proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, en la fabricación de un medicamento para usar en el tratamiento de la infección
- 15 por el VIH. En otra realización, se proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, en la fabricación de un medicamento para usar en la cura de la infección por el VIH. En otra realización, se proporciona un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables para usar en el tratamiento de la infección por el HIV. En otra realización, se proporciona
- 20 un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables para usar en la cura de la infección por el VIH.

- Los presentes compuestos se pueden combinar con o coadministrar con otros agentes terapéuticos, en particular agentes que pueden potenciar la actividad o tiempo de disposición de los compuestos. Las terapias de combinación de acuerdo con la invención
- 25 comprenden la administración de al menos un compuesto de la invención y el uso de al menos otro método de tratamiento. En una realización, las terapias de combinación de acuerdo con la invención, comprenden la administración de al menos un compuesto de la invención y terapia quirúrgica. En una realización, las terapias de combinación de acuerdo con la invención comprenden la administración de al menos un compuesto de la invención
- 30 y radioterapia. En una realización, las terapias de combinación de acuerdo con la invención comprenden la administración de al menos un compuesto de la invención y al menos un agente de tratamiento sintomático (p. ej., al menos un agente antiemético). En una

realización, las terapias de combinación de acuerdo con la presente invención comprenden la administración de al menos un compuesto de la invención y al menos otro agente quimioterapéutico. En una realización particular, la invención comprende la administración de al menos un compuesto de la invención y al menos un agente antineoplásico. En otra
5 realización más, la invención comprende un régimen terapéutico donde los inhibidores de EZH2 de esta descripción no están activos o son ellos mismos activos o significativamente activos, pero cuando se combinan con otra terapia, que puede ser o no activa como una terapia independiente, la combinación proporciona un resultado terapéutico útil.

Por el término “coadministración” y derivados del mismo, como se usa en la
10 presente memoria, se refieren a la administración simultánea o cualquier forma de administración secuencial separada del compuesto inhibidor de EZH2, como se describe en la presente memoria, y un ingrediente o ingredientes activos adicionales, que se sabe que son útiles en el tratamiento del cáncer, que incluyen quimioterapia y el tratamiento con radiación. La expresión ingrediente o ingredientes activos adicionales, como se usa en la
15 presente memoria, incluye cualquier compuesto o agente terapéutico que se sabe o que demuestra propiedades ventajosas cuando se administra a un paciente que necesita tratamiento para el cáncer. Preferiblemente, si la administración no es simultánea, los compuestos se administran próximos en el tiempo uno de otro. Además, no importa si los compuestos se administran en la misma forma farmacéutica, p. ej., un compuesto se puede
20 administrar por vía tópica y otro compuesto se puede administrar por vía oral.

Típicamente, cualquier agente antineoplásico que tenga actividad frente a un tumor susceptible de ser tratado, se puede coadministrar en el tratamiento del cáncer en la presente invención. Los ejemplos de dicho agentes se pueden encontrar en *Cancer Principles and Practice of Oncology* de V.T. Devita, T.S. Lawrence, and S.A. Rosenberg
25 (editors), 10ª edición (5 de diciembre, 2014), Lippincott Williams & Wilkins Publishers. Un experto en la materia será capaz de discernir que combinaciones de agentes serían útiles basándose en las características particulares de los fármacos y el cáncer implicado. Los agentes antineoplásicos típicos útiles en la presente invención incluyen, pero no se limitan a agentes antimicrotúbulos o antimetabólicos; complejos de coordinación de platino; agentes alquilantes; agentes antibióticos; inhibidores de topoisomerasa I; inhibidores de
30 topoisomerasa II; antimetabolitos; hormonas y análogos hormonales; inhibidores de la ruta de transducción de señales; inhibidores de angiogénesis tirosina quinasas no receptoras;

agentes inmunoterapéuticos; agentes proapoptóticos; inhibidores de la señalización del ciclo celular; inhibidores de proteasoma; inhibidores de proteína de choque térmico; inhibidores del metabolismo del cáncer; y agentes de terapia génica para el cáncer.

5 Los ejemplos de un ingrediente o ingredientes activos adicionales para usar en combinación o coadministrados con los presentes compuestos inhibidores de EZH2 son agentes antineoplásicos. Los ejemplos de agentes antineoplásicos incluyen, pero no se limitan a agentes quimioterapéuticos; agentes inmunomoduladores; inmunomoduladores; y adyuvantes inmunoestimuladores.

10 Los agentes antimicrotúbulos o antimitóticos son agentes específicos de fase activos contra los microtúbulos de células tumorales durante la fase M o de mitosis del ciclo celular. Los ejemplos de agentes antimicrotúbulos incluyen, pero no se limitan a diterpenoides y alcaloides de la vinca.

15 Los complejos de coordinación de platino son agentes antineoplásicos no específicos de fase, que son interactivos con el ADN. Los complejos de platino entran en las células tumorales, sufren adición de agua, y forman entrecruzamientos intra y entrecadenas con el ADN produciendo efectos biológicos adversos al tumor. Los ejemplos de complejos de coordinación de platino incluyen, pero no se limitan a cisplatino y carboplatino.

20 Lo agentes alquilantes son agentes no específicos de fase antineoplásicos y electrófilos fuertes. Típicamente, los agentes alquilantes forman enlaces covalentes, por alquilación, con el ADN a través de los restos nucleófilos de la molécula de ADN, tales como grupos fosfato, amino, sulfhidrilo, carboxilo e imidazol. Dicha alquilación altera la función del ácido nucleico conduciendo a la muerte celular. Los ejemplos de agentes alquilantes incluyen, pero no se limitan a mostazas nitrogenadas tales como
25 ciclofosfamida, melfalán y clorambucilo; sulfonatos de alquilo tales como busulfán; nitrosoureas tales como carmustina; y triazenos tales como decarbazina.

Los antineoplásicos antibióticos son agentes no específicos de fase, que se unen o intercalan con el ADN. Esta acción altera la función habitual de los ácidos nucleicos, conduciendo a la muerte celular. Los ejemplos de agentes antineoplásicos antibióticos
30 incluyen, pero no se limitan a actinomicinas tales como dactinomicina; antraciclinas tales como daunorubicina y doxorubicina; y bleomicinas.

Los inhibidores de topoisomerasa I incluyen, pero no se limitan a camptotecinas. La actividad citotóxica de las camptotecinas se cree que está relacionada con su actividad inhibidora de topoisomerasa I.

Los inhibidores de topoisomerasa II incluyen, pero no se limitan a
5 epipodofilotoxinas. Las epipodofilotoxinas son agentes antineoplásicos específicos de fase derivados de la planta mandrágora. Las epipodofilotoxinas típicamente afectan a las células en fases S y G₂ del ciclo celular por formación de un complejo ternario con la topoisomerasa II y el ADN haciendo que se rompa la cadena de ADN. Se acumulan las roturas de cadena y sigue la muerte celular. Los ejemplos de epipodofilotoxinas incluyen,
10 pero no se limitan a etopósido y tenipósido.

Los agentes neoplásicos antimetabolitos son agentes antineoplásicos específicos de fase que actúan en la fase S (síntesis de ADN) del ciclo celular inhibiendo la síntesis de ADN o inhibiendo la síntesis de las bases puricas o pirimidínicas y limitando así la síntesis de ADN. Por consiguiente, la fase S no avanza y le sigue la muerte celular. Los ejemplos
15 de agentes antineoplásicos antimetabolitos incluyen, pero no se limitan a fluorouracilo, metotrexato, citarabina, mercaptopurina, tioguanina y gemcitabina.

Las hormonas y análogos hormonales son compuestos útiles para tratar los cánceres en los que hay una relación entre la o las hormonas y el crecimiento y/o falta de crecimiento del cáncer. Los ejemplos de hormonas y análogos de hormonas útiles en el
20 tratamiento del cáncer incluyen, pero no se limitan a adrenocorticosteroides tales como dexametasona, prednisona y prednisolona; aminoglutetimida y otros inhibidores de aromatasa tales como anastrozol, letrozol, vorazol y exemestano; progestrinas tales como acetato de megestrol; estrógenos, andrógenos, y anti-andrógenos tales como flutamida, nilutamida, bicalutamida, acetato de ciproterona y 5 α -reductasas tales como finasterida y
25 dutasterida; anti-estrógenos tales como tamoxifeno, toremifeno, raloxifeno, droloxifeno, yodoxifeno, así como moduladores selectivos de los receptores de estrógenos (SERMS); y hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) y análogas de la misma que estimulan la liberación de hormona luteinizante (LH) y/o hormona estimulante de folículo (FSH), agonistas de LHRH, y antagonistas tales como acetato de goserelina y leuprolida.

30 Los inhibidores de la ruta de transducción de señales son los inhibidores que bloquean o inhiben un procedimiento químico que causa un cambio intracelular. Como se usa en la presente memoria, este cambio es proliferación o diferenciación celular. Los

inhibidores de transducción de señales útiles en la presente invención incluyen, pero no se limitan a inhibidores de tirosina quinasas receptoras, tirosina quinasas no receptoras, bloqueadores del dominio SH2/SH3, serina/treonina quinasas, fosfatidil inositol-3 quinasas, señalización de mioinositol y oncogenes Ras.

5 Varias proteína tirosina quinasa catalizan la fosforilación de restos tirosilo específicos en diferentes proteínas implicadas en la regulación del crecimiento celular. Dichas proteínas tirosina quinasas se pueden clasificar ampliamente como quinasas receptoras y no receptoras.

10 Las quinasas receptoras son proteínas transmembrana que tienen un dominio de unión de ligando extracelular, un dominio transmembrana y un dominio de tirosina quinasa. Las tirosina quinasas receptoras están implicadas en la regulación del crecimiento celular y en general se denominan receptores de factores de crecimiento. La activación inadecuada o incontrolada de muchas de estas quinasas, es decir actividad del receptor de factor de crecimiento quinasa aberrante, por ejemplo, por exceso de expresión o mutación, se ha mostrado que da como resultado el crecimiento celular incontrolado. Por consiguiente, la actividad aberrante de dichas quinasas se ha relacionado con el crecimiento tisular maligno. Por consiguiente, los inhibidores de dichas quinasas podrían proporcionar métodos de tratamiento del cáncer. Los receptores de factores de crecimiento incluyen, por ejemplo, receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFr), receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFr), erbB2, erbB4, receptor del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGFR), tirosina quinasas con dominios de homología de factor de crecimiento epidérmico y similar a inmunoglobulina (TIE-2), receptor del factor de crecimiento insulínico –I (IGFI), factor estimulador de colonias de macrófagos (Cfms), BTK, ckit, cmet, receptores de factores de crecimiento de fibroblastos (FGF), receptores de Trk (TrkA, TrkB y TrkC), receptores de efrina (eph) y el protooncogén RET. Se están desarrollando varios inhibidores de receptores de crecimiento e incluyen antagonistas de ligandos, anticuerpos, inhibidores de tirosina quinasa y oligonucleótidos de sentido contrario. Los receptores de factores de crecimiento y agentes que inhiben esa función del receptor de factor de crecimiento se describen, por ejemplo, en Kath J.C., *Exp. Opin. Ther. Patents*, 10(6):803-818 (2000); Shawver L.K., et al., *Drug Discov. Today*, 2(2): 50-63 (1997); y Loftis, F. J. y Gullick W.J., “Growth factor receptors as targets.” en *New Molecular Targets for Cancer Chemotherapy*, Kerr D.J. and Workman P. (editors), (27 de

junio, 1994), CRC Press. Los ejemplos no limitantes de inhibidores de receptores de factores de crecimiento incluyen pazopanib y sorafenib.

Las tirosina quinasas, que no son quinasas receptoras de factores de crecimiento, se denominan tirosina quinasas no receptoras. Las tirosina quinasas no receptoras útiles en la presente invención, que son objetivos o potenciales objetivos de los fármacos antineoplásicos, incluyen cSrc, Lck, Fyn, Yes, Jak, cAbl, FAK (quinasa de adhesión focal), tirosina quinasa de Bruton, y Bcr-Abl. Dichas quinasas no receptoras y agentes que inhiben la función de las tirosina quinasas no receptoras se describen en Sinha S. y Corey S.J., *J. Hematother. Stem Cell Res.*, 8(5): 465-480 (2004) y Bolen, J.B., Brugge, J.S., *Annu. Rev. Immunol.*, 15: 371-404 (1997).

Los bloqueadores del dominio SH2/SH3 son agentes que alteran el dominio de unión SH2 o SH3 en una variedad de enzimas o proteínas adaptadoras que incluyen, PI3-K subunidad p85, familia de quinasas Src, moléculas adaptadores (Shc, Crk, Nck, Grb2) y Ras-GAP. Los dominios SH2/SH3 como objetivos para los fármacos antineoplásicos se describen en Smithgall T.E., *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*, 34(3): 125-32 (1995).

Los inhibidores de serina/treonina quinasas incluyen, pero no se limitan a bloqueadores de la cascada de MAP quinasa que incluyen bloqueadores de quinasas Raf (rafk), quinasas reguladas por señales extracelulares o mitógenos (MEK), y quinasas reguladas por señales extracelulares (ERK); bloqueadores de miembros de la familia de proteína quinasa C incluyendo bloqueadores de PKC (alfa, beta, gamma, epsilon, mu, lambda, iota, zeta); quinasas Ikb (IKKa, IKKb); quinasas de la familia PKB; miembros de la familia de quinasas AKT; quinasas receptores de TGF beta; e inhibidores de la diana de rapamicina en células de mamífero (mTOR), que incluyen, pero no se limitan a rapamicina (FK506) y rapálogos, RAD001 o everolimus (AFINITOR[®]), CCI-779 o temsirolimus, AP23573, AZD8055, WYE-354, WYE-600, WYE-687 y Pp121. Los ejemplos de inhibidores de serina/treonina quinasas incluyen, pero no se limitan a trametinib, dabrafenib, e inhibidores de Akt afuresertib y N-{(1S)-2-amino-1-[(3,4-difluorofenil)metil]etil}-5-cloro-4-(4-cloro-1-metil-1H-pirazol-5-il)-2-furancarboxamida.

Los inhibidores miembros de la familia de fosfatidil inositol 3-quinasa que incluyen bloqueadores de la PI3-quinasa, ATM, DNA-PK, y Ku también son útiles en la presente invención. Dichas quinasas se describen en Abraham R.T., *Curr. Opin. Immunol.*, 8(3): 412-418 (1996); Canman C.E., y Lim D.S., *Oncogene*, 17(25): 3301-3308 (1998); Jackson S.P.,

Int. J. Biochem. Cell Biol., 29(7): 935-938 (1997); y Zhong H., et al., *Cancer Res.*, 60(6): 1541-1545 (2000).

También son útiles en la presente invención inhibidores de la señalización de mioinositol, tales como bloqueadores de la fosfolipasa C y análogos de mioinositol. Dichos
5 inhibidores de señales se describen en Powis G., y Kozikowski A., "Inhibitors of Myo-Inositol Signaling." en *New Molecular Targets for Cancer Chemotherapy*, Kerr D.J. y Workman P. (editors), (27 de junio, 1994), CRC Press.

Otro grupo de inhibidores de la ruta de transducción de señales son inhibidores del oncogén Ras. Dichos inhibidores incluyen inhibidores de la farnesiltransferasa, geranil-
10 geranil transferasa, y proteasas CAAX así como oligonucleótidos de sentido contrario, ribozimas y otras inmunoterapias. Se ha mostrado que dichos inhibidores bloquean la activación de ras en células que contienen el mutante ras de tipo natural, actuando así como agentes antiproliferativos. La inhibición del oncogén Ras se describe en Scharovsky O.G., et al., *J. Biomed. Sci.*, 7(4): 292-298 (2000); Ashby M.N., *Curr. Opin. Lipidol.*, 9(2): 99-
15 102 (1998); y Bennett C.F. y Cowser L.M., *Biochim. Biophys. Acta.*, 1489(1): 19-30 (1999).

Los antagonistas para la unión del ligando a quinasas receptoras también pueden servir como inhibidores de la transducción de señales. Este grupo de inhibidores de la ruta de transducción de señales incluye el uso de anticuerpo humanizados u otros antagonistas
20 para el dominio extracelular de unión del ligando de las tirosina quinasas receptoras. Los ejemplos de anticuerpo u otros antagonistas para la unión del ligando a quinasas receptoras incluyen, pero no se limitan a cetuximab (ERBITUX[®]), trastuzumab (HERCEPTIN[®]); trastuzumab emtansina (KADCYLA[®]); pertuzumab (PERJETA[®]); inhibidores de ErbB que incluyen lapatinib, erlotinib y gefitinib; y anticuerpo específico de VEGFR2 2C3 (véase
25 Brekken R.A., et al., *Cancer Res.*, 60(18): 5117-5124 (2000)).

Los inhibidores de la angiogénesis quinasas no receptoras también pueden ser útiles en la presente invención. Los inhibidores de la angiogénesis relacionados con VEGFR y TIE2 se han descrito antes en relación con los inhibidores de la transducción de señales (tanto receptores como tirosina quinasas receptoras). La angiogénesis en general está
30 asociada con la señalización de erbB2/EGFR puesto que se ha mostrado que los inhibidores de erbB2 y EGFR inhiben la angiogénesis, principalmente la expresión de VEGF. Por consiguiente, los inhibidores de tirosina quinasas no receptoras se pueden usar

en combinación con los inhibidores de EGFR/erbB2 de la presente invención. Por ejemplo, anticuerpos anti-VEGF, que no reconocen el VEGFR (la tirosina quinasa receptora), pero se unen al ligando; moléculas pequeñas inhibidores de integrina ($\alpha_v\beta_3$) que inhibirán la angiogénesis; la endostatina y angiostatina (noRTK) también pueden demostrar ser útiles
5 en combinación con los compuestos descritos. (Véase Bruns C.J., et al., *Cancer Res.*, 60(11): 2926-2935 (2000); Schreiber A.B., et al., *Science*, 232(4755): 1250-1253 (1986); Yen L., et al., *Oncogene*, 19(31): 3460-3469 (2000)).

Los agentes usados en regímenes inmunoterapéuticos pueden ser útiles también en combinación con los compuestos de fórmula (I). Hay una serie de estrategias
10 inmunológicas para generar una respuesta inmunitaria contra erbB2 o EGFR. Estas estrategias en general están en el campo de las vacunaciones contra tumores. La eficacia de los procedimientos inmunológicos se puede mejorar mucho mediante la inhibición combinada de las rutas de señalización de erbB2/EGFR usando una molécula pequeña inhibidora. Se encuentra una descripción del procedimiento inmunológico/vacuna tumoral
15 contra erbB2/EGFR en Reilly R.T., et al., *Cancer Res.*, 60(13): 3569-3576 (2000); y Chen Y., et al., *Cancer Res.*, 58(9): 1965-1971 (1998).

Los agentes usados en regímenes proapoptóticos (p. ej., oligonucleótidos antiparalelos Bcl-2) también se pueden usar en la combinación de la presente invención. Los miembros de la familia Bcl-2 de proteínas bloquean la apoptosis. Por lo tanto, la
20 regulación por aumento de Bcl-2 se ha asociado con la quimiorresistencia. Estudios han mostrado que el factor de crecimiento epidérmico (EGF) estimula los miembros antiapoptóticos de la familia Bcl-2 (es decir, Mcl-1). Por lo tanto, las estrategias diseñadas para regular por disminución la expresión de Bcl-2 en tumores han demostrado beneficio clínico. Dichas estrategias proapoptóticas usando la estrategia de oligonucleótidos
25 antiparalelos para Bcl-2 se describen en Waters J.S., et al., *J. Clin. Oncol.*, 18(9): 1812-1823 (2000); y Kitada S., et al., *Antisense Res. Dev.*, 4(2): 71-79 (1994). Los ejemplos de moléculas pequeñas inhibidoras de Bcl-2 incluyen, pero no se limitan a venetoclax.

Los inhibidores de la señalización del ciclo celular inhiben moléculas implicadas en el control del ciclo celular. Una familia de proteína quinasas llamada quinasas
30 dependientes de ciclinas (CDK) y su interacción con una familia de proteínas denominadas ciclinas, controla el avance por el ciclo celular eucariota. La activación e inactivación coordinadas de diferentes complejos de ciclina/CDK es necesaria para el avance normal

por el ciclo celular. Se están desarrollando varios inhibidores de la señalización del ciclo celular. Por ejemplo, ejemplos de quinasas dependientes de ciclinas que incluyen CDK2, CDK4 y CDK6 y se describen inhibidores para los mismos, por ejemplo en Rosania G.R., y Chang Y.T., *Exp. Opin. Ther. Patents*, 10(2): 215-230 (2000). Además, p21WAF1/CIP1
5 se ha descrito como un inhibidor potente y universal de quinasas dependientes de ciclina (Cdk) (Ball K.L., *Prog. Cell Cycle Res.*, 3: 125-134 (1997)). Compuestos que se sabe que inducen la expresión de p21WAF1/CIP1 se han implicado en la supresión de la proliferación celular y como que tienen actividad de supresión tumoral (Richon V.M., et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 97(18): 10014-10019 (2000)), y se incluyen como
10 inhibidores de la señalización del ciclo celular. Los inhibidores de la histona desacetilasa (HDAC) están implicados en la activación transcripcional de p21WAF1/CIP1 (Vigushin D.M., y Coombes R.C., *Anticancer Drugs*, 13(1): 1-13 (2002)), y son inhibidores de la señalización del ciclo celular adecuados para usar en la combinación de la presente memoria. Los ejemplos de dichos inhibidores de HDAC incluyen, pero no se limitan a
15 vorinostat, romidepsin, panobinostat, ácido valproico y mocetinostat.

Los inhibidores del proteosoma son fármacos que bloquean la acción de los proteosomas, complejos celulares que rompen las proteínas, como la proteína p53. Hay varios inhibidores de proteosoma comercializados o que se están estudiando para el tratamiento del cáncer. Los inhibidores del proteosoma adecuados para usar en
20 combinación en la presente memoria incluyen, pero no se limitan a bortezomib, disulfiram, galato de epigallocatequina, salinosporamida A, y carfilzomib.

Las proteínas de choque térmico de 70 kilodalton (Hsp70) y proteínas de choque térmico de 90 kilodalton (Hsp90) son una familia de proteínas de choque térmico expresadas ubicuamente. Hsp70 y Hsp90 son expresadas en exceso en algunos tipos de
25 cáncer. Se han estudiado varios tipos de inhibidores de Hsp70 y Hsp90 en el tratamiento del cáncer. Los ejemplos de inhibidores de Hsp70 y Hsp90 para usar en combinación en la presente memoria incluyen, pero no se limitan a tanespimicina y radicicol.

Muchas células tumorales muestran un metabolismo notablemente diferente de aquel de tejidos normales. Por ejemplo, la tasa de glicolisis, el proceso metabólico que
30 convierte la glucosa en piruvato, aumenta, y el piruvato generado se reduce a lactato, en lugar de ser oxidado más en la mitocondria por el ciclo del ácido tricarboxílico (TCA). Este efecto se observa a menudo en condiciones aerobias y se conoce como el efecto Warburg.

La lactato deshidrogenasa A (LDH-A), una isoforma de la lactato deshidrogenasa expresada en células musculares, tiene una función principal en el metabolismo de células tumorales, llevando a cabo la reducción del piruvato a lactato, que después puede ser exportado fuera de la célula. Se ha mostrado que la enzima es regulada por aumento en muchos tipos de tumores. La alteración del metabolismo de la glucosa descrito en el efecto Warburg es crítico para el crecimiento y proliferación de células de cáncer y se ha mostrado que la reducción de la expresión de la LDH-A usando RNA-i conduce a una reducción en la proliferación celular y crecimiento tumoral en modelos de xenoinjerto (Tennant D.A., et al., *Nat. Rev. Cancer*, 10(4): 267-277 (2010); Fantin V.R., et al., *Cancer Cell*, 9(6): 425-434 (2006)).

Se han encontrado niveles altos de la ácido graso sintasa (FAS) en lesiones precursoras de cáncer. La inhibición farmacológica de FAS afecta a la expresión de oncogenes clave implicados tanto en el desarrollo como en el mantenimiento del cáncer. Alli P.M., et al., *Oncogene*, 24(1): 39-46 (2005).

Los inhibidores del metabolismo del cáncer, que incluyen inhibidores de la LDH-A e inhibidores de la biosíntesis de ácidos grasos (o inhibidores de FAS), son adecuados en combinación en la presente memoria. La terapia génica del cáncer implica la transferencia selectiva de ADN/ARN recombinante usando vectores de suministro de genes víricos y no víricos para modificar los pronósticos de cáncer para fines terapéuticos. Los ejemplos de terapia génica para el cáncer incluyen, pero no se limitan a terapias génicas con genes suicidas y oncolíticas, así como terapias de células T adoptivas.

Como se usa en la presente memoria, los “inmunomoduladores” se refieren a cualquier sustancia incluyendo anticuerpos monoclonales, que afecte al sistema inmunitario. Los inmunomoduladores se pueden usar como agentes antineoplásicos para el tratamiento del cáncer. Por ejemplo, los inmunomoduladores incluyen, pero no se limitan a anticuerpos y otros antagonistas para CTLA-4, tales como ipilimumab (YERVOY®), y PD-1, tal como nivolumab (OPDIVO®) y pembrolizumab (KEYTRUDA®). Otros inmunomoduladores incluyen, pero no se limitan a anticuerpos y otros antagonistas para PD-L1, OX-40, LAG3, TIM-3, 41BB y GITR.

Como se usa en la presente memoria, “antagonista de PD-1” significa cualquier compuesto químico o molécula biológica que bloquea la unión de PD-L1 expresado en una célula de cáncer a PD-1 expresado en una célula inmunitaria (célula T, células B o célula

NKT) y preferiblemente también bloquea la unión de PD-L2 expresado en una célula de cáncer a PD-1 expresado en célula inmunitaria. Nombres o sinónimos alternativos para PD-1 y sus ligandos incluyen: PDCD1, PD1, CD279 y SLEB2 para PD-1; PDCD1L1, PDL1, B7H1, B7-4, CD274 y B7-H para PD-L1; y PDCD1L2, PDL2, B7-DC, Btdc y CD273 para PD-L2. Las secuencias de aminoácidos de PD-1 humano se pueden encontrar en el sitio de NCBI N°: NP_005009. Las secuencias de aminoácidos de PD-L1 y PD-L2 humano se pueden encontrar en el sitio de NCBI N°: NP_054862 y NP_079515, respectivamente.

Los antagonistas de PD-1 útiles en cualquiera de los aspectos de la presente invención, incluyen un anticuerpo monoclonal (mAc), o su fragmento de unión al antígeno, que se une específicamente a PD-1 o PD-L1, y preferiblemente se une específicamente a PD-1 humano o PD-L1 humano. El mAc puede ser un anticuerpo humano, un anticuerpo humanizado o un anticuerpo quimérico, y puede incluir una región constante humana. En algunas realizaciones, la región constante humana se selecciona del grupo que consiste en regiones constantes de IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4, y en realizaciones preferidas, la región constante humana es una región constante de IgG1 o IgG4. En algunas realizaciones, el fragmento de unión al antígeno se selecciona del grupo que consiste en fragmentos Fab, Fab'-SH, F(ab')₂, scFv y Fv. Los ejemplos de mAc que se unen a PD-1 humano, y útiles en los diferentes aspectos y realizaciones de la presente invención, se describen en la patente de EE.UU. n° 8.552.154; patente de EE.UU. n° 8.354.509; patente de EE.UU. n° 8.168.757; patente de EE.UU. n° 8.008.449; patente de EE.UU. n° 7.521.051; patente de EE.UU. n° 7.488.802; WO2004072286; WO2004056875; y WO2004004771.

Otros antagonistas de PD-1 útiles en cualquiera de los aspectos y realizaciones de la presente invención, incluyen una inmunoadhesina que se une específicamente a PD-1, y preferiblemente se une específicamente a PD-1 humano, p. ej., una proteína de fusión que contiene la parte de unión a PD-1 o extracelular de PD-L1 o PD-L2 fusionada con una región constante tal como una región Fc de una molécula de inmunoglobulina. Los ejemplos de moléculas de inmunoadhesina que se unen específicamente a PD-1 se describen en los documentos WO2010027827 y WO2011066342. Las proteínas de fusión específicas útiles como antagonistas de PD-1 en el método de tratamiento, medicamentos y usos de la presente invención, incluyen AMP-224 (también conocido como B7-DCIg), que es una proteína de fusión PD-L2-FC y se une a PD-1 humano.

Nivolumab es un anticuerpo monoclonal anti-PD-1 humanizado disponible en el mercado como OPDIVO®. Nivolumab está indicado para el tratamiento de algunos melanomas irresecables o metastásicos. Nivolumab se une a y bloquea la activación de PD-1, una proteína transmembrana de la superfamilia de Ig, mediante sus ligandos PD-L1 y PD-L2, dando como resultado la activación de células T y respuestas inmunitarias mediadas por células contra las células tumorales y patógenos. PD-1 activado regula por disminución la activación de células T y la función efectora a través de la supresión de la activación de la ruta de P13k/Akt. Otros nombres para nivolumab incluyen: BMS-936558, MDX-1106, y ONO-4538. La secuencia de aminoácidos para nivolumab y los métodos de uso y fabricación se describen en la patente de EE.UU. N° US 8.008.449.

Pembrolizumab es un anticuerpo monoclonal anti-PD-1 humanizado disponible en el mercado como KEYTRUDA®. Pembrolizumab está indicado para el tratamiento de algunos melanomas irresecables o metastásicos. La secuencia de aminoácidos de pembrolizumab y métodos de uso se describen en la patente de EE.UU. n° 8.168.757.

Los anticuerpos anti-PD-L1 y métodos para hacerlos se conocen en la técnica. Dichos anticuerpos contra PD-L1 pueden ser policlonales o monoclonales y/o recombinantes y/o humanizados. Los anticuerpos contra PD-L1 se están desarrollando como agentes inmunomoduladores para el tratamiento del cáncer.

Los anticuerpos contra PD-L1 de ejemplo se describen en la patente de EE.UU. N° 9.212.224; patente de EE.UU. N° 8.779.108; patente de EE.UU. N° 8.552.154; patente de EE.UU. N° 8.383.796; patente de EE.UU. N° 8.217.149; publicación de patente de EE.UU. N° 20110280877; WO2013079174; y WO2013019906. Se describen anticuerpos contra PD-L1 (también denominados CD274 o B7-H1) de ejemplo adicionales y métodos de uso, en la patente de EE.UU. N° 8.168.179; patente de EE.UU. N° 7.943.743; patente de EE.UU. N° 7.595.048; WO2014055897; WO2013019906; y WO2010077634. Los anticuerpos monoclonales anti-PD-L1 humano útiles como antagonistas de PD-1 en el método de tratamiento, medicamentos y usos de la presente invención, incluyen MPDL3280A, BMS-936559, MEDI4736, MSB0010718C.

Atezolizumab es un anticuerpo monoclonal anti-PD-L1 totalmente humanizado disponible en el mercado como TECENTRIQ™. Atezolizumab está indicado para el tratamiento de algunos carcinomas uroteliales localmente avanzados o metastásicos. Atezolizumab bloquea la interacción de PD-L1 con PD-1 y CD80.

CD134, también conocido como OX40, es un miembro de la superfamilia de receptores TNFR que no es expresado constitutivamente en células T indiferenciadas en reposo, a diferencia de CD28. OX40 es una molécula coestimuladora secundaria, expresada después de 24 a 72 horas después de inactivación; su ligando, OX40L, tampoco
5 es expresado en células de presentación de antígeno en reposo, pero si lo es después de su activación. La expresión de OX40 depende de la activación completa de las células T; sin CD28, la expresión de OX40 se retrasa y es de niveles cuatro veces menores. Los anticuerpos contra OX40, proteínas de fusión de OX40 y métodos para usarlos, se describen en las patentes de EE.UU. N°: US 7.504.101; US 7.758.852; US 7.858.765; US
10 7.550.140; US 7.960.515; WO2012027328; WO2013028231.

Ejemplos adicionales de un principio o principios activos adicionales (agentes antineoplásicos) para usar en combinación o coadministrado con los compuestos inhibidores de EZH2 de la presente invención, son anticuerpos y otros antagonistas para CD20, retinoides, y otros inhibidores de quinasas. Los ejemplos de dichos anticuerpos o
15 antagonistas incluyen, pero no se limitan a rituximab (RITUXAN[®] y MABTHERA[®]), ofatumumab (ARZERRA[®]), y bexaroteno (TARGRETIN[®]). Los anticuerpos o antagonistas de esta clase se pueden combinar adicionalmente con agentes activos adicionales que incluyen agentes alquilantes, agentes antibióticos antineoplásicos (tales como agentes intercalantes), otros agentes antineoplásicos (como alcaloides de la vinca) y
20 adrenocorticoesteroides. Por ejemplo, dicha combinación puede incluir rituximab, ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina, y prednisona (R-CHOP).

Los ejemplos adicionales de un principio o principios activos adicionales (agentes antineoplásicos) para usar en combinación o coadministrado con los compuestos inhibidores de EZH2 de la presente invención, son antagonistas del receptor similar a Toll
25 4 (TLR4), que incluyen, pero no se limitan a fosfatos de aminoalquil-glucosaminida (AGP).

Se sabe que los AGP son útiles como adyuvantes de vacunas y agentes inmunoestimuladores para estimular la producción de citoquinas, activar macrófagos, promover la respuesta inmunitaria innata y aumentar la producción de anticuerpos en
30 animales inmunizados. Los AGP sin ligandos sintéticos de TLR4. Los AGP y sus efectos inmunomoduladores por TLR4 se describen en publicaciones de patentes tales como WO 2006016997, WO 2001090129, y/o patente de EE.UU. N° 6.113.918 y se han descrito en la

bibliografía. Se describen derivados de AGP adicionales en la patente de EE.UU. N° 7.129.219, patente de EE.UU. N° 6.911.434, y patente de EE.UU. N° 6.525.028. Algunos AGP actúan como agonistas de TLR4, mientras que otros son reconocidos como antagonistas de TLR4.

- 5 Ejemplos adicionales no limitantes de un principio o principios activos adicionales (agentes antineoplásicos) para usar en combinación o coadministrado con los compuestos inhibidores de EZH2 de la presente invención, son anticuerpos contra ICOS.

Las CDR para anticuerpos murinos contra ICOS humano que tienen actividad agonista se muestran en el documento PCT/EP2012/055735 (WO 2012131004). También
10 se describen anticuerpos contra ICOS en los documentos WO 2008137915, WO 2010056804, EP 1374902, EP1374901 y EP1125585.

Ejemplos adicionales no limitantes de un principio o principios activos adicionales (agentes antineoplásicos) para usar en combinación o coadministrado con los compuestos inhibidores de EZH2 de la presente invención, son compuestos moduladores de STING,
15 inhibidores de CD39 y antagonistas de A2a y A2a de adenosina.

Agentes antineoplásicos seleccionados que se pueden usar en combinación con un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, incluyen, pero no se limitan a: abarelix, abemaciclib, abiraterona, afatinib, aflibercept, aldoxorubicina, alectinib, alemtuzumab, trióxido de arsénico, asparaginasa, axitinib, AZD-9291, belinostat,
20 bendamustina, bevacizumab, blinatumomab, bosutinib, brentuximab vedotin, cabazitaxel, cabozantinib, capecitabina, ceritinib, clofarabina, cobimetinib, crizotinib, daratumumab, dasatinib, degarelix, denosumab, dinutuximab, docetaxel, elotuzumab, entinostat, enzalutamida, epirubicina, eribulin, filgrastim, flumatinib, fulvestrant, fruquintinib, gemtuzumab ozogamicina, ibritumomab, ibrutinib, idelalisib, imatinib, irinotecán,
25 ixabepilona, ixazomib, lenalidomida, lenvatinib, leucovorina, mecloretamina, necitumumab, nelarabina, netupitant, nilotinib, obinutuzumab, olaparib, omacetaxina, osimertinib, oxaliplatino, paclitaxel, palbociclib, palonosetrón, panitumumab, pegfilgrastim, peginterferón alfa-2b, pemetrexed, plerixafor, pomalidomida, ponatinib, pralatrexato, quizartinib, radio-223, ramucirumab, regorafenib, rolapitant, rucaparib,
30 sipuleucel-T, sonidegib, sunitinib, talimogene laherparepvec, tipiracil, topotecán, trabectedina, trifluridina, triptorelina, uridina, vandetanib, velaparib, vemurafenib, venetoclax, vincristina, vismodegib y ácido zoledrónico.

Además, los compuestos de fórmula (I) se pueden usar en combinación con uno o más de otros agentes que pueden ser útiles en el tratamiento o cura del VIH.

Los ejemplos de dichos agentes incluyen, pero no se limitan a:

Inhibidores nucleótidos de transcriptasa inversa tales como zidovudina, didanosina, 5 lamivudina, zalcitabina, abacavir, estavudina, adefovir, adefovir dipivoxil, fozivudina, todoxil, emtricitabina, alovudina, amdoxovir, elvucitabina, y agentes similares;

Inhibidores no nucleótidos de transcriptasa inversa (que incluyen un agente que tienen actividad antioxidante tal como inmunocal, oltipraz, etc.) tales como nevirapina, delavirdina, efavirenz, lovirida, inmunocal, oltipraz, capravirina, lersivirina, 10 GSK2248761, TMC-278, TMC-125, etravirina, y agentes similares;

Inhibidores de proteasa tales como saquinavir, ritonavir, indinavir, nelfinavir, amprenavir, fosamprenavir, brecanavir, darunavir, atazanavir, tipranavir, palinavir, lasinavir, y agentes similares;

Inhibidores de la entrada, unión y fusión tales como enfuvirtida (T-20), T-1249, 15 PRO-542, PRO-140, TNX-355, BMS-806, BMS-663068 y BMS-626529, 5-Helix y agentes similares;

Inhibidores de integrasa tales como raltegravir, elvitegravir, dolutegravir, cabotegravir y agentes similares;

Inhibidores de maduración tales como PA-344 y PA-457, y agentes similares; e

20 Inhibidores de CXCR4 y/o CCR5 tales como vicriviroc (Sch-C), Sch-D, TAK779, maraviroc (UK 427,857), TAK449, así como los descritos en los documentos WO 02/74769, PCT/US03/39644, PCT/US03/39975, PCT/US03/39619, PCT/US03/39618, PCT/US03/39740, y PCT/US03/39732, y agentes similares.

Ejemplos adicionales donde se pueden usar los compuestos de la presente 25 invención en combinación con uno o más agentes útiles en la prevención o tratamiento del VIH, se encuentran en la tabla 1.

Tabla 1:

Aprobado por la FDA	Nombre comercial	Nombre genérico	Fabricante
<i>Inhibidores nucleósidos de transcriptasa inversa (NRTI)</i>			
1987	Retrovir	zidovudina, azidotimidina, AZT, ZDV	GlaxoSmithKline
1991	Videx	didanosina, didesoxiinosina, ddI	Bristol-Myers Squibb
1992	Hivid	zalcitabina, didesoxicitidina, ddC	Roche Pharmaceuticals
1994	Zerit	estavudina, d4T	Bristol-Myers Squibb
1995	Epivir	lamivudina, 3TC	GlaxoSmithKline
1997	Combivir	lamivudina + zidovudina	GlaxoSmithKline
1998	Ziagen	sulfato de abacavir, ABC	GlaxoSmithKline
2000	Trizivir	abacavir+ lamivudina+ zidovudina	GlaxoSmithKline
2000	Videx EC	didanosina con recubrimiento entérico, ddI EC	Bristol-Myers Squibb
2001	Viread	fumarato de tenofovir disoproxilo, TDF	Gilead Sciences
2003	Emtriva	emtricitabina, FTC	Gilead Sciences
2004	Epzicom	abacavir+ lamivudina	GlaxoSmithKline
2004	Truvada	emtricitabina + fumarato de tenofovir disoproxilo	Gilead Sciences

<i>Inhibidores no nucleósidos de transcriptasa inversa (NNRTI)</i>			
1996	Viramune	nevirapina, NVP	Boehringer Ingelheim
1997	Rescriptor	delavirdina, DLV	Pfizer
1998	Sustiva	efavirenz, EFV	Bristol-Myers Squibb
2008	Intelence	Etravirina	Tibotec Therapeutics
<i>Inhibidores de proteasa (PI)</i>			
1995	Invirase	mesilato de saquinavir, SQV	Roche Pharmaceuticals
1996	Norvir	ritonavir, RTV	Abbott Laboratories
1996	Crixivan	indinavir, IDV	Merck
1997	Viracept	mesilato de nelfinavir, NFV	Pfizer
1997	Fortovase	saquinavir (ya no está comercializado)	Roche Pharmaceuticals
1999	Agenerase	amprenavir, APV	GlaxoSmithKline
2000	Kaletra	lopinavir+ ritonavir, LPV/RTV	Abbott Laboratories
2003	Reyataz	sulfato de atazanavir, ATV	Bristol-Myers Squibb
2003	Lexiva	fosamprenavir calcio, FOS-APV	GlaxoSmithKline
2005	Aptivus	tripranavir, TPV	Boehringer Ingelheim
2006	Prezista	Darunavir	Tibotec Therapeutics
<i>Inhibidores de fusión</i>			
2003	Fuzeon	Enfuvirtida, T-20	Roche Pharmaceuticals & Trimeris

<i>Inhibidores de entrada</i>			
2007	Selzentry	Maraviroc	Pfizer
<i>Inhibidores de integrasa</i>			
2007	Isentress	Raltegravir	Merck
2013	Tivicay	Dolutegravir	ViiV Healthcare
---	---	Cabotegravir	

El alcance de las combinaciones de compuestos de esta invención con agentes para el VIH no está limitado a los mencionados antes, sino que incluye, en principio, cualquier combinación con cualquier composición farmacéutica útil para curar o tratar el VIH. Como se ha indicado, en dichas combinaciones, los compuestos de la presente invención y otros agentes para el VIH se pueden administrar por separado o conjuntamente. Además, un agente puede ser previo a, simultáneo a o posterior a la administración del o de los otros agentes.

Los compuestos de la presente invención se pueden usar en combinación con uno o más agentes útiles como potenciadores farmacológicos, así como con o sin compuestos adicionales para prevenir o tratar el VIH. Los ejemplos de dichos potenciadores farmacológicos (o reforzadores farmacocinéticos) incluyen, pero no se limitan a ritonavir, GS-9350 y SPI-452. Ritonavir es el ácido 10-hidroxi-2-metil-5-(1-metiletil)-1-[2-(1-metiletil)-4-tiazolil]-3,6-dioxo-8,11-bis(fenilmetil)-2,4,7,12-tetraazatridecan-13-oico, éster de 5-tiazolilmetilo, [5S-(5S*,8R*,10R*,11R*)] y está disponible en Abbott Laboratories de Abbott park, Illinois, como Norvir. Ritonavir es un inhibidor de proteasa del VIH indicado con otros agentes antirretrovirales para el tratamiento de la infección por el VIH. Ritonavir también inhibe el metabolismo del fármaco mediado por P450, así como el sistema de transporte celular P-glucoproteína (Pgp), dando así como resultado mayores concentraciones del compuesto activo dentro del organismo. GS-9350 es un compuesto desarrollado por Gilead Sciences de Foster City California como un potenciador farmacológico. SPI-452 es un compuesto que está desarrollando Sequoia Pharmaceuticals de Gaithersburg, Maryland, como potenciador farmacológico.

Se proporcionan en la presente memoria métodos de tratamiento o prevención de afecciones autoinmunitarias e inflamatorias y enfermedades que pueden mejorar por inhibición de EZH1 y / o EZH2 y así, p. ej., modular el nivel de expresión de genes diana activados por metilación y reprimidos por metilación, o modular la actividad de proteínas de señalización. Un método puede comprender administrar a un ser humano, p. ej., un ser humano que lo necesite, una cantidad terapéuticamente eficaz de un agente descrito en la presente memoria.

La inflamación representa un grupo de respuestas vasculares, celulares y neurológicas a traumatismo. La inflamación se puede caracterizar como el movimiento de células inflamatorias tales como monocitos, neutrófilos y granulocitos en los tejidos. Esto normalmente está asociado con la función de barrera endotelial reducida y edema en los tejidos. La inflamación se puede clasificar como aguda o crónica. La inflamación aguda es la respuesta inicial del cuerpo a estímulos dañinos y se alcanza por el mayor movimiento de plasma y leucocitos desde la sangre a los tejidos lesionados. Una cascada de sucesos biológicos se propaga y madura la respuesta inflamatoria, que implica el sistema vascular local, el sistema inmunitario, y diferentes células dentro del tejido lesionado. La inflamación prolongada, conocida como inflamación crónica, conduce a un cambio progresivo en el tipo de células que están presentes en el sitio de la inflamación, y se caracteriza por la destrucción simultánea y curación del tejido del proceso inflamatorio.

Cuando ocurre como parte de una respuesta inmunitaria a una infección o como una respuesta aguda a un traumatismo, la inflamación puede ser beneficiosa y normalmente es autolimitante. Sin embargo, la inflamación puede ser perjudicial en diferentes condiciones. Estas incluyen la producción excesiva de inflamación en respuesta a agentes infecciosos, que puede conducir a daño de órganos significativo y a la muerte (por ejemplo, en el marco de septicemia). Además, la inflamación crónica en general es perjudicial y es la raíz de numerosas enfermedades crónicas, que producen daño grave e irreversible a los tejidos. En dichas situaciones, la respuesta inmunitaria a menudo se autodirige contra los tejidos (autoinmunidad), aunque las respuestas crónicas a entidades extrañas también pueden conducir al daño circunstante de los propios tejidos.

El objetivo de la terapia antiinflamatoria es, por lo tanto, reducir esta inflamación, para inhibir la autoinmunidad cuando está presente y dejar que evolucione el proceso fisiológico o de curación y reparación del tejido.

Los agentes se pueden usar para tratar inflamaciones de cualquier tejido u órganos del cuerpo, incluyendo inflamación musculoesquelética, inflamación vascular, inflamación neural, inflamación del sistema digestivo, inflamación ocular, inflamación del sistema reproductivo y otra inflamación, como se ilustra más adelante.

5 La inflamación musculoesquelética se refiere a cualquier afección inflamatoria del sistema musculoesquelético, en particular aquellas afecciones que afectan a articulaciones esqueléticas, que incluyen articulaciones de la mano, muñeca, codo, hombro, mandíbula, columna vertebral, cuello, cadera, rodilla, tobillo y pie, y afecciones que afectan a tejidos que conectan los músculos con huesos tales como tendones. Los ejemplos de inflamación musculoesquelética que se puede tratar con compuestos de la invención, incluyen artritis (que incluye, por ejemplo, osteoartritis, artritis psoriásica, espondilitis anquilosante, artritis infecciosa aguda y crónica, artritis asociada con gota y pseudogota, y artritis idiopática juvenil), tendonitis, sinovitis, tenosinovitis, bursitis, fibrositis (fibromialgia), epicondilitis, miositis, y osteitis (que incluye, por ejemplo, la enfermedad de Paget, osteítis pubis, y osteítis fibrosa quística).

10

15

La inflamación ocular se refiere a la inflamación de cualquier estructura del ojo, incluyendo los párpados. Los ejemplos de inflamación ocular que se puede tratar en esta invención incluyen la blefaritis, blefarocalasia, conjuntivitis, dacrioadenitis, queratitis, queratoconjuntivitis seca (ojo seco), escleritis, triquiasis y uveítis.

20 Los ejemplos de inflamación del sistema nervioso que se pueden tratar en esta invención incluyen encefalitis, síndrome de Guillain-Barre, meningitis, neuromiotonía, narcolepsia, esclerosis múltiple, mielitis y esquizofrenia.

Los ejemplos de inflamación de la vasculatura o sistema linfático que se pueden tratar en esta invención incluyen arterosclerosis, artritis, flebitis, vasculitis y linfangitis.

25 Los ejemplos de afecciones inflamatorias del sistema digestivo que se pueden tratar en esta invención incluyen colangitis, colecistitis, enteritis, enterocolitis, gastritis, gastroenteritis, ileítis y proctitis.

Los ejemplos de afecciones inflamatorias del sistema reproductor que se pueden tratar en esta invención incluyen cervicitis, corioamnionitis, endometritis, epididimitis, onfalitis, ovaritis, orquitis, salpingitis, abscesos en trompa-ovario, uretritis, vaginitis, vulvitis y vulvodinia.

30

- Los agentes se pueden usar para tratar afecciones autoinmunitarias que tienen un componente inflamatorio. Dichas afecciones incluyen la alopecia diseminada aguda universal, enfermedad de Behcet, enfermedad de Chagas, síndrome de fatiga crónica, disautonomía, encefalomiелitis, espondilitis anquilosante, anemia aplásica, hidradenitis supurativa, hepatitis autoinmune, ovaritis autoinmune, enfermedad celiaca, enfermedad de Crohn, diabetes mellitus tipo 1, arteritis de células gigantes, síndrome de goodpasture, enfermedad de Grave, síndrome de Guillain-Barre, enfermedad de Hashimoto, púrpura de Henoch-Schönlein, enfermedad de Kawasaki, lupus eritematoso, colitis microscópica, poliarteritis microscópica, enfermedad mixta del tejido conectivo, esclerosis múltiple, miastenia gravis, síndrome de opsoclonía-mioclónia, neuritis óptica, tiroiditis de Ord, pénfigo, poliarteritis nodosa, polimialgia, síndrome de Reiter, síndrome de Sjogren, arteritis temporal, granulomatosis de Wegener, anemia hemolítica autoinmune por anticuerpos calientes, cistitis intersticial, enfermedad de lyme, morfea, sarcoidosis, esclerodermia, colitis ulcerosa y vitiligo.
- Los agentes se pueden usar para tratar enfermedades de hipersensibilidad mediadas por células T que tienen un componente inflamatorio. Dichas afecciones incluyen hipersensibilidad por contacto, dermatitis de contacto (que incluye la debida a hiedra venenosa), urticaria, alergias de la piel, alergias respiratorias (fiebre de heno, rinitis alérgica) y enteropatía por sensibilidad al gluten (enfermedad celiaca).
- Otras afecciones inflamatorias que se pueden tratar en esta invención incluyen, por ejemplo, la apendicitis, dermatitis, dermatomiositis, endocarditis, fibrositis, gingivitis, glositis, hepatitis, hidradenitis supurativa, iritis, laringitis, mastitis, miocarditis, nefritis, otitis, pancreatitis, parotitis, percarditis, peritonitis, faringitis, pleuritis, pneumonitis, prostatitis, pielonefritis y estomatitis, rechazo de trasplante (que implica órganos tales como riñón, hígado, corazón, pulmón, páncreas (p. ej., células del islote), médula ósea, córnea, intestino delgado, aloinjertos de piel, homoinjertos de piel y xenoinjertos de válvula cardíaca, enfermedad del suero y enfermedad de injerto contra huésped), pancreatitis aguda, pancreatitis crónica, síndrome de dificultad respiratoria aguda, síndrome de Sexary, hiperplasia suprarrenal congénita, tiroiditis no supurativa, hipercalcemia asociada con cáncer, pénfigo, dermatitis herpetiforme ampollosa, eritema multiforme grave, dermatitis exfoliativa, dermatitis seborreica, rinitis alérgica estacional o perenne, asma bronquial, dermatitis de contacto, dermatitis atópica, reacciones de

hipersensibilidad a fármaco, conjuntivitis alérgica, queratitis, herpes zóster oftálmico, iritis y oiridociclitis, coriorretinitis, neuritis óptica, sarcoidosis sintomática, quimioterapia de tuberculosis pulmonar diseminada o fulminante, púrpura trombocitopénica idiopática en adultos, trombocitopenia secundaria en adultos, anemia hemolítica (autoinmune) adquirida, leucemia y linfomas en adultos, leucemia aguda de la infancia, enteritis regional, vasculitis autoinmune, esclerosis múltiple, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, rechazo de trasplante de órganos sólidos, septicemia.

Los tratamientos preferidos incluye uno cualquiera del tratamiento de rechazo de trasplante, artritis psoriásica, esclerosis múltiple, diabetes de tipo 1, asma, lupus eritematosos sistémico, enfermedad pulmonar crónica y afecciones infecciosas que acompañan a la inflamación (p. ej., septicemia).

Las composiciones farmacéuticas se pueden presentar en formas de dosis unitaria que contiene una cantidad predeterminada de ingrediente activo por dosis unitaria. Dicha unidad puede contener, por ejemplo, de 0,5 mg a 1 g, preferiblemente de 1 mg a 700 mg, más preferiblemente de 5 mg a 100 mg de un compuesto de fórmula (I), dependiendo de la afección que se está tratando, la vía de administración y la edad, peso y estado del paciente, o las composiciones farmacéuticas se pueden presentar en formas de dosis unitaria que contienen una cantidad predeterminada de principio activo por dosis unitaria. Las composiciones de dosificación unitaria preferidas son las que contienen una dosis o subdosis diaria, como se ha mencionado antes en la presente memoria, o una fracción adecuada de la misma, de un principio activo. Además, dichas composiciones farmacéuticas se pueden preparar por cualquiera de los métodos conocidos en la técnica farmacéutica.

Las composiciones farmacéuticas se pueden adaptar para la administración por cualquier vía adecuada, por ejemplo, por la vía oral (que incluye bucal o sublingual), rectal, nasal, tópica (que incluye bucal, sublingual o transdérmica), vaginal o parenteral (que incluye subcutánea, intramuscular, intravenosa o intradérmica). Dichas composiciones se pueden preparar por cualquier método conocido en la técnica de la farmacia, por ejemplo asociando el compuesto de fórmula (I) con vehículo(s) o excipiente(s).

Las composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración oral se pueden presentar como unidades discretas tales como cápsulas o comprimidos; polvos o gránulos; soluciones o suspensiones en líquidos acuosos o no acuosos; espumas o batidos

comestibles; o emulsiones líquidas de aceite en agua o emulsiones líquidas de agua en aceite.

Las cápsulas se hacen preparando una mezcla en polvo, como se ha descrito antes, y llenando cubiertas de gelatina formadas. Se pueden añadir agentes deslizantes y

5 lubricantes tales como sílice coloidal, talco, estearato magnésico, estearato de calcio o polietilenglicol sólido a la mezcla en polvo antes de la operación de llenado. También se puede añadir un agente disgregante o solubilizante tal como agar-agar, carbonato de calcio o carbonato sódico, para mejorar la disponibilidad del medicamento cuando se ingiere la cápsula.

10 Además, cuando se desee o sea necesario, también se pueden incorporar aglutinantes, lubricantes, agentes disgregantes o agentes colorantes adecuados en la mezcla. Los aglutinantes adecuados incluyen almidón, gelatina, azúcares naturales tales como glucosa o beta-lactosa, edulcorantes de maíz, gomas naturales y sintéticas tales como goma arábica, tragacanto o alginato sódico, carboximetilcelulosa, polietilenglicol, ceras y
15 similares. Los lubricantes usados en estas formas farmacéuticas incluyen oleato sódico, estearato sódico, estearato magnésico, benzoato sódico, acetato sódico, cloruro sódico y similares. Los disgregantes incluyen, sin limitación, almidón, metilcelulosa, agar, bentonita, goma de xantano y similares. Los comprimidos se formulan, por ejemplo, mediante preparación de una mezcla en polvo, granulación o doble compresión, adición de
20 un lubricante y disgregante y prensado en comprimidos. Una mezcla en polvo se prepara mezclando el compuesto, adecuadamente molido, con un diluyente o base como se ha descrito antes, y opcionalmente, con un aglutinante tal como carboximetilcelulosa, un alginato, gelatina o polivinilpirrolidona, un retardante de disolución tal como parafina, un acelerador de la resorción tal como una sal cuaternaria y/o un agente de absorción tal como
25 bentonita, caolín o fosfato dicálcico. La mezcla en polvo se puede granular mediante troqueles de formación de comprimidos mediante la adición de ácido esteárico, una sal de estearato, talco o aceite mineral. La mezcla lubricada después se comprime en comprimidos. Los compuestos de la presente invención también se pueden combinar con un vehículo inerte fluido y comprimir en comprimidos directamente sin las etapas de
30 granulación o doble compresión. Se puede proporcionar un recubrimiento transparente u opaco que consiste en un recubrimiento de sellado de laca, un recubrimiento de azúcar o

material polimérico y un recubrimiento de brillo de cera. Se pueden añadir colorantes a estos recubrimientos para distinguir las dosificaciones unitarias.

Los líquidos orales tales como solución, jarabes y elixires se pueden preparar en forma de unidad de dosificación de modo que una cantidad dada contiene una cantidad
5 predeterminada de un compuesto de fórmula (I). Se pueden preparar jarabes disolviendo el compuesto en una solución acuosa aromatizada de forma adecuada, mientras que los elixires se preparan mediante el uso de un vehículo alcoholico no tóxico. Las suspensiones se pueden formular dispersando el compuesto en un vehículo no tóxico. Se pueden añadir solubilizantes y emulsionantes tales como alcoholes de isoestearilo etoxilados y éteres de
10 sorbitol polioxietilénicos, conservantes, aditivos de sabor tales como aceite de menta o edulcorantes naturales o sacarina u otros edulcorantes artificiales, y similares.

Cuando sea adecuado, las composiciones farmacéuticas de unidades de dosificación para la administración oral se pueden microencapsular. La formulación también se puede preparar para prolongar o sostener la liberación, por ejemplo, por recubrimiento o
15 inmersión de material en partículas en polímeros, cera o similares.

Las composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración rectal se pueden presentar como supositorios o como enemas.

Las composiciones farmacéuticas adaptadas para administración vaginal se pueden presentar como pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones en
20 pulverización.

Las composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración parenteral incluyen soluciones para inyección estériles acuosas o no acuosas que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos y solutos que hacen a la composición isotónica con la sangre del receptor previsto; y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que
25 pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes. Las composiciones farmacéuticas se pueden presentar en envases de unidosis o multidosis, por ejemplo ampollas y viales sellados, y se pueden almacenar en estado liofilizado que requiere solo la adición del vehículo líquido estéril, por ejemplo, agua para inyecciones, inmediatamente antes de usar. Las soluciones y suspensiones para inyección extemporánea se pueden
30 preparar a partir de polvos estériles, gránulos y comprimidos.

Debe entenderse que además de los ingredientes particularmente mencionados antes, las composiciones farmacéuticas pueden incluir otros agentes convencionales en la

técnica, teniendo en cuenta el tipo de formulación en cuestión, por ejemplo, los adecuados para la administración oral pueden incluir agentes de sabor.

Una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente invención dependerá de una serie de factores que incluyen, por ejemplo, la edad, peso del receptor
5 previsto, la afección precisa que requiere tratamiento y su gravedad, la naturaleza de la formulación y la vía de administración, y finalmente estará a discreción del especialista que prescribe la medicación. Sin embargo, una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (I) para el tratamiento de la anemia, en general estará en el intervalo de 0,001 a 100 mg/kg de peso corporal del receptor al día, adecuadamente en el intervalo de 0,01 a 10 mg/kg de
10 peso corporal al día. Para un mamífero adulto de 70 kg, la cantidad real al día será adecuadamente de 7 a 700 mg y esta cantidad se puede dar en una sola dosis diaria o en una serie (tal como dos, tres, cuatro, cinco o seis) subdosis al día, de modo que la dosis diaria total sea la misma. Una cantidad eficaz de una sal o solvato, etc., se puede determinar como una proporción de una cantidad eficaz del compuesto de fórmula (I) por
15 sí solo. Está previsto que dosis similares serían adecuadas para el tratamiento de otras afecciones citadas antes.

En algunas realizaciones, esta invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-neopentilpiperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-
20 4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona. En otra realización, esta invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-neopentilpiperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona en donde al menos 10% en peso de la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-
25 (1-(1-neopentilpiperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona está presente como la forma cristalina de la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-neopentilpiperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona (Forma II) descrita en la presente memoria. En otra realización, esta invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende
30 la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-neopentilpiperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona, en donde al menos 20% en peso, o al menos 30% en peso, o al menos 40% en peso, o al

menos 50% en peso, o al menos 60% en peso, o al menos 70% en peso, o al menos 80% en peso, o al menos 90% en peso de la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-neopentilpiperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona está presente como la forma cristalina de la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-neopentilpiperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona (Forma II) descrita en la presente memoria. En otra realización, esta invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-neopentilpiperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona, en donde al menos 95% en peso, o al menos 96% en peso, o al menos 97% en peso, o al menos 98% en peso, o al menos 99% en peso, o al menos 99,5% en peso, o al menos 99,8% en peso, o al menos 99,9% en peso de la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-neopentilpiperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona está presente como la forma cristalina de la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-neopentilpiperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona (Forma II) descrita en la presente memoria.

En algunas realizaciones, esta invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-((1-metilciclobutil)metil)piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona. En otra realización, esta invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-((1-metilciclobutil)metil)piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona, en donde al menos 10% en peso de la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-((1-metilciclobutil)metil)piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona está presente como la forma cristalina de la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-((1-metilciclobutil)metil)piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona (Forma I) descrita en la presente memoria. En otra realización, esta invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-

((1-metilciclobutil)metil)piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona, en donde al menos 20% en peso, o al menos 30% en peso, o al menos 40% en peso, o al menos 50% en peso, o al menos 60% en peso, o al menos 70% en peso, o al menos 80% en peso, o al menos 90% en peso de la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-((1-metilciclobutil)metil)piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona está presente como la forma cristalina de la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-((1-metilciclobutil)metil)piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona (Forma I) descrita en la presente memoria. En otra realización, esta invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-((1-metilciclobutil)metil)piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona, en donde al menos 95% en peso, o al menos 96% en peso, o al menos 97% en peso, o al menos 98% en peso, o al menos 99% en peso, o al menos 99,5% en peso, o al menos 99,8% en peso, o al menos 99,9% en peso de la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-((1-metilciclobutil)metil)piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona está presente como la forma cristalina de la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-((1-metilciclobutil)metil)piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona (Forma I) descrita en la presente memoria.

En otra realización, esta invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-neopentilpiperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona, en donde no más de 90% en peso de la sal es amorfa. En otra realización, esta invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-neopentilpiperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona, en donde no más de 80% en peso, o no más de 70% en peso, o no más de 60% en peso, o no más de 50% en peso, o no más de 40% en peso, o no más de 30% en peso, o no más de 20% en peso, o no más de 10% en peso de la sal es amorfa. En otra realización, esta invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende la sal de ácido clorhídrico de la

(R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-neopentilpiperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona, en donde no más de 5% en peso, o no más de 4% en peso, o no más de 3% en peso, o no más de 2% en peso, o no más de 1% en peso, o no más de 0,5% en peso, o no más de 0,2% en peso, o no más de 0,1% en peso de la sal es amorfa.

En otra realización, esta invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-((1-metilciclobutil)metil)piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona, en donde no más de 90% en peso de la sal es amorfa. En otra

realización, esta invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-((1-metilciclobutil)metil)piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona, en donde no más de 80% en peso, o no más de 70% en peso, o no más de 60% en peso, o no más de 50% en peso, o no más de 40% en peso, o no más de 30% en

peso, o no más de 20% en peso, o no más de 10% en peso de la sal es amorfa. En otra realización, esta invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-((1-metilciclobutil)metil)piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona, en donde no más de 5% en peso, o no más de 4% en peso, o no más de 3% en peso, o no más de 2% en peso, o no más de 1% en peso, o no más de 0,5% en peso, o no más de 0,2% en peso, o no más de 0,1% en peso de la sal es amorfa.

En otra realización, esta invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-neopentilpiperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-

c]azepin-4-ona, en donde no más de 90% en peso de la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-neopentilpiperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona está presente en una forma distinta de la forma cristalina de la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-neopentilpiperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona (Forma II) descrita en la presente memoria. En otra realización, esta invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-

2-(1-(1-neopentilpiperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona, en donde no más de 80% en peso, o no más de 70% en peso, o no más de 60% en peso, o no más de 50% en peso, o no más de 40% en peso, o no más de 30% en peso, o no más de 20% en peso, o no más de 10% en peso de la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-neopentilpiperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona está presente en una forma distinta de la forma cristalina de la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-neopentilpiperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona (Forma II) descrita en la presente memoria. En otra realización, esta invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-neopentilpiperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona en donde no más de 5% en peso, o no más de 4% en peso, o no más de 3% en peso, o no más de 2% en peso, o no más de 1% en peso, o no más de 0,5% en peso, o no más de 0,2% en peso, o no más de 0,1% en peso de la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-neopentilpiperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona está presente en una forma distinta de la forma cristalina de la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-neopentilpiperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona (Forma II) descrita en la presente memoria.

En otra realización, esta invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-((1-metilciclobutil)metil)piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona, en donde no más de 90% en peso de la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-((1-metilciclobutil)metil)piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona está presente en una forma distinta de la forma cristalina de la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-((1-metilciclobutil)metil)piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona (Forma I) descrita en la presente memoria. En otra realización, esta invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-((1-

metilciclobutil)metil)piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahydro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona, en donde no más de 80% en peso, o no más de 70% en peso, o no más de 60% en peso, o no más de 50% en peso, o no más de 40% en peso, o no más de 30% en peso, o no más de 20% en peso, o no más de 10% en peso de la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-(1-metilciclobutil)metil)piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahydro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona está presente en una forma distinta de la forma cristalina de la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-(1-metilciclobutil)metil)piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahydro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona (Forma I) descrita en la presente memoria. En otra realización, esta invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-(1-metilciclobutil)metil)piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahydro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona, en donde no más de 5% en peso, o no más de 4% en peso, o no más de 3% en peso, o no más de 2% en peso, o no más de 1% en peso, o no más de 0,5% en peso, o no más de 0,2% en peso, o no más de 0,1% en peso de la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-(1-metilciclobutil)metil)piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahydro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona está presente en una forma distinta de la forma cristalina de la sal de ácido clorhídrico de la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-(1-metilciclobutil)metil)piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahydro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona (Forma I) descrita en la presente memoria.

DEFINICIONES

Los términos se usan dentro de sus significados aceptados. Las siguientes definiciones son para aclarar, pero no limitar los términos definidos.

Como se usa en la presente memoria, el término “alquilo” representa un resto de hidrocarburo saturado, lineal o ramificado que tiene el número de átomos de carbono especificado. La expresión “alquilo (C₁-C₄)” se refiere a un resto alquilo que contiene de 1 a 4 átomos de carbono. Los alquilos de ejemplo incluyen, pero no se limitan a metilo, etilo, *n*-propilo, isopropilo, *n*-butilo, isobutilo, *s*-butilo, *t*-butilo, pentilo, hexilo, heptilo y octilo.

“Alcoxi” se refiere a un grupo que contiene un radical alquilo, definido en lo que antecede, unido por un átomo de oxígeno de conexión. La expresión “alcoxi (C₁-C₄)” se refiere a un radical hidrocarbonado de cadena lineal o ramificada que tiene al menos 1 y hasta 4 átomos de carbono unidos por un átomo de oxígeno de conexión. Los ejemplos de grupos “alcoxi (C₁-C₄)” útiles en la presente invención incluyen metoxi, etoxi, *n*-propoxi, isopropoxi, *n*-butoxi, *s*-butoxi, isobutoxi y *t*-butoxi.

Cuando el término “alquilo” se usa en combinación con otros grupos sustituyentes, tales como “halogenoalquilo (C₁-C₈)”, “hidroxialquilo (C₁-C₈)”, o “alcoxi(C₁-C₄)alquilo(C₁-C₈)”, el término “alquilo” se pretende que abarque un radical hidrocarbonado divalente de cadena lineal o ramificada, en donde el punto de unión es por el resto alquilo. La expresión “halogenoalquilo (C₁-C₄)” se pretende que signifique un radical que tiene uno o más átomos de halógeno, que pueden ser iguales o diferentes, en uno o más átomos de carbono de un resto alquilo que contiene de 1 a 4 átomos de carbono, que es un radical de carbonos de cadena lineal o ramificada. Los ejemplos de grupos “halogenoalquilo (C₁-C₄)” útiles en la presente invención incluyen, pero no se limitan a -CF₃ (trifluorometilo), -CCl₃ (triclorometilo), 1,1-difluoroetilo, 2-fluoro-2-metilpropilo, 2,2-difluoropropilo, 2,2,2-trifluoroetilo y hexafluoroisopropilo. Los ejemplos de “hidroxialquilo (C₁-C₈)” útiles en la presente invención incluyen, pero no se limitan a hidroximetilo, hidroxietilo e hidroxiiisopropilo. Los ejemplos de grupos “alcoxi (C₁-C₄)alquilo(C₁-C₈)” útiles en la presente invención incluyen, pero no se limitan a metoximetilo, metoxietilo, metoxiiisopropilo, etoximetilo, etoxietilo, etoxiiisopropilo, isopropoximetilo, isopropoxietilo, isopropoxiiisopropilo, *t*-butoximetilo, *t*-butoxietilo y *t*-butoxiiisopropilo.

Como se usa en la presente memoria, el término “cicloalquilo” se refiere a un anillo hidrocarbonado cíclico, saturado, no aromático, que contiene el número especificado de átomos de carbono. La expresión “cicloalquilo (C₃-C₅)” se refiere a un anillo hidrocarbonado cíclico aromático que tiene de 3 a 5 átomos de carbono. Los grupos “cicloalquilo (C₃-C₅)” de ejemplo, útiles en la presente invención incluyen ciclopropilo, ciclobutilo y ciclopentilo.

Como se usa en la presente memoria, el término “bicicloalquilo” se refiere a un sistema de anillos hidrocarbonado bicíclico, con puente, condensado o espiránico, saturado, que contiene el número de átomos de carbono especificado. Los grupos “bicicloalquilo

(C₆-C₁₀)” de ejemplo incluyen, pero no se limitan a biciclo[2.1.1]hexilo, biciclo[2.1.1]heptilo, biciclo[3.2.1]octilo, biciclo[2.2.2]octilo, biciclo[3.2.2]nonilo, biciclo[3.3.1]nonilo, biciclo[3.3.2]decilo, biciclo[4.3.1]decilo, biciclo[2.2.0]hexilo, biciclo[3.1.0]hexilo, biciclo[3.2.0]heptilo, biciclo[4.1.0]heptilo, octahidropentalenilo, 5 biciclo[4.2.0]octilo, decahidronaftalenilo, espiro[3.3]heptilo, espiro[2.4]heptilo, espiro[3.4]octilo, espiro[2.5]octilo, espiro[4.4]nonilo, espiro[3.5]nonilo y espiro[4.5]decilo.

Los términos “halógeno” y “halogeno-“ representan sustituyentes flúor, cloro, bromo o yodo. “Hidroxil” o “hidroxilo” se pretende que signifique el radical -OH.

Como se usa en la presente memoria, el término “opcionalmente” significa que el 10 suceso o sucesos descritos a continuación pueden ocurrir o no, e incluye tanto suceso(s) que ocurre(n) como suceso(s) que no ocurre(n).

Como se usa en la presente memoria, el término “tratamiento” se refiere a aliviar la afección especificada, eliminar o reducir uno o más síntomas de la afección, ralentizar o eliminar el avance de la afección, y retrasar la reaparición de la afección en un paciente o 15 sujeto previamente afectado o diagnosticado.

“Curar” o “que cura” una enfermedad en un paciente, se usa para indicar la erradicación, detención, parada o fin del virus de la inmunodeficiencia humana o síntomas, o el avance de los síntomas o virus, durante un periodo definido. Como un ejemplo, en una realización, “curar” o “que cura” se refiere a la administración terapéutica o una 20 combinación de administraciones que solas o en combinación con uno o más de otros compuestos induce y mantiene el control vírico sostenido (niveles indetectables de viremia en el plasma, p. ej., por un ensayo de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), un ensayo de bADN (ADN de cadena ramificada) o un ensayo de NASBA (amplificación basada en secuencia de ácido nucleico) del virus de inmunodeficiencia humana después de 25 un mínimo de dos años sin ninguna otra intervención terapéutica. Los ensayos de PCR, bADN y NASBA anteriores se pueden llevar a cabo usando técnicas conocidas y familiares para el experto en la materia. Como un ejemplo, la erradicación, parada, detención o fin del virus de inmunodeficiencia humana o síntomas, o del avance de los síntomas o el virus, se puede mantener durante un mínimo de dos años.

Como se usa en la presente memoria, la expresión “cantidad eficaz” significa la 30 cantidad de un fármaco o agente farmacéutico que producirá la respuesta biológica o

médica de un tejido, sistema, animal o ser humano que está buscando, por ejemplo, un investigador o especialista clínico.

La expresión “cantidad terapéuticamente eficaz” significa cualquier cantidad, que comparada con un sujeto correspondiente que no ha recibido dicha cantidad, da un mejor

5 tratamiento, curación o mejora de la enfermedad, trastorno o efecto secundario, o una disminución de la velocidad de avance de una enfermedad o trastorno. La expresión también incluye dentro de su alcance, cantidades eficaces para potenciar la función fisiológica normal. Para usar en terapia, las cantidades terapéuticamente eficaces de un compuesto de fórmula (I), así como sus sales, se pueden administrar como producto

10 químico bruto. Adicionalmente, el principio activo se puede presentar en forma de una composición farmacéutica.

Preparación de compuestos

Abreviaturas

	AcOH	ácido acético
5	Ar	Ar gaseoso
	Boc	<i>tert</i> -butiloxicarbonilo
	Bu ₄ NCl	cloruro de tetrabutilamonio
	CH ₃ CN	acetonitrilo
	Cs ₂ CO ₃	carbonato de cesio
10	DCE	1,2-dicloroetano
	DCM	diclorometano
	DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamida
	DMSO	dimetilsulfóxido
	EDC	1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida
15	ES	electropulverización
	Et ₂ O	éter dietílico
	EtOAc	acetato de etilo
	EtOH	etanol
	h	hora(s)
20	H ₂	hidrógeno gaseoso
	HCl	ácido clorhídrico
	H ₂ O	agua
	HOAt	1-hidroxi-7-azabenzotriazol
	H ₂ SO ₄	ácido sulfúrico
25	HPLC	cromatografía de líquidos de alto rendimiento
	LCMS	cromatografía de líquidos-espectrometría de masas
	LiAlH ₄	hidruro de litio y aluminio
	MeOH	metanol
	MgSO ₄	sulfato magnésico
30	min	minuto(s)
	M	molar
	MS	espectrometría de masas

	N	normal
	N ₂	nitrógeno gaseoso
	NaBH ₄	borohidruro sódico
	NaBH(OAc) ₃	triacetoxiborohidruro sódico
5	Na ₂ CO ₃	carbonato sódico
	NaHCO ₃	bicarbonato sódico
	NaHMDS	<i>bis</i> (trimetilsilil)amida sódica
	NaOH	hidróxido sódico
	Na ₂ SO ₄	sulfato sódico
10	NBS	<i>N</i> -bromosuccinimida
	NH ₄ Cl	cloruro amónico
	NH ₄ OAc	acetato amónico
	NH ₄ OH	hidróxido amónico
	NMM	<i>N</i> -metilmorfolina
15	Pd(OAc) ₂	acetato de paladio(II)
	Pd(PPh ₃) ₄	tetrakis(trifenilfosfina)paladio(0)
	PLM	microscopía de luz polarizada
	(<i>R,R</i>)-[COD]Ir[cy ₂ PThrePHOX]	((4 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)-(+)- <i>O</i> -[1-bencil-1-(5-metil-2-fenil-4,5-dihidrooxazol-4-il)-2-feniletil]
20		(diciclohexilfosfinito)(1,5- ciclooctadieno)iridio(I)
		tetrakis(3,5-bis(trifluorometil)fenilborato
	t.a.	temperatura ambiente
	sat.	saturado
	TBME	éter de metilo y <i>terc</i> -butilo
25	TFA	ácido trifluoroacético
	THF	tetrahidrofurano

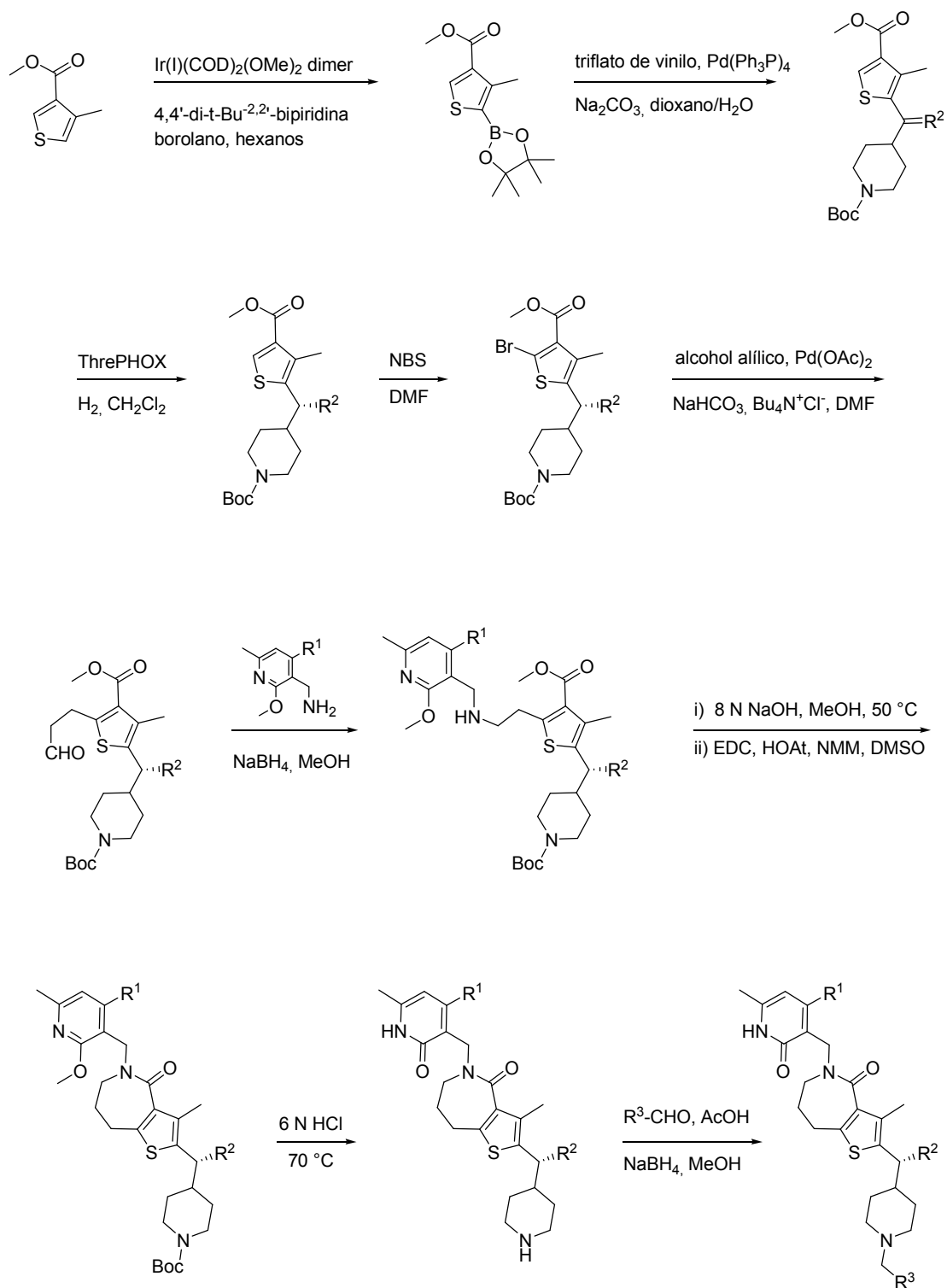
Esquemas de síntesis genéricos

Los compuestos de esta invención se pueden preparar por una variedad de métodos, que incluyen los métodos sintéticos convencionales bien conocidos. Los métodos sintéticos
5 generales ilustrativos se exponen más adelante y después se preparan compuestos específicos de la invención en los ejemplos de trabajo. El experto en la materia apreciará que si un sustituyente descrito en la presente memoria no es compatible con los métodos sintéticos descritos en la presente memoria, el sustituyente se puede proteger con un grupo protector adecuado que es estable en las condiciones de reacción. El grupo protector se
10 puede eliminar en un punto adecuado en la secuencia de reacción para proporcionar un compuesto intermedio u objetivo deseado. En todos los esquemas descritos más adelante, se usan grupos protectores para grupos sensibles o reactivos cuando es necesario de acuerdo con los principios generales de la química sintética. Los grupos protectores se manipulan de acuerdo con métodos convencionales de síntesis orgánica (T.W. Green y
15 P.G.M. Wuts, (1991) *Protecting Groups in Organic Synthesis*, John Wiley & Sons, incorporado por referencia en relación con los grupos protectores). Estos grupos se eliminan en una etapa conveniente de la síntesis del compuesto usando métodos que son fácilmente evidentes para los expertos en la materia. La selección de los procedimientos así como de las condiciones de reacción y el orden de su ejecución estará de acuerdo con la
20 preparación de compuestos de la presente invención. Los materiales de partida están disponibles en el mercado o se hacen a partir de materiales de partida disponibles en el mercado, usando métodos conocidos para los expertos en la materia.

Algunos compuestos de fórmula (I) se pueden preparar según el esquema 1 o métodos análogos. Una borilación mediada por iridio, seguida de acoplamiento de Suzuki
25 con un triflato adecuadamente sustituido, da la correspondiente olefina acoplada. Una reducción asimétrica mediada por iridio de la olefina, seguida de bromación, proporciona el bromotiofeno. Un acoplamiento de Heck mediado por paladio del bromotiofeno con alcohol alílico, seguido de aminación reductora del aldehído resultante con la amina adecuadamente sustituida proporciona la amina secundaria. La saponificación del éster y
30 formación de amida intramolecular proporciona la tiofenolactama elaborada. La eliminación de los grupos protectores metilo y terc-butilcarbonilo proporciona la piridona.

La aminación reductora con un aldehído adecuadamente sustituido proporciona los compuestos de fórmula (I).

Esquema 1: Síntesis de compuestos de fórmula (I).



PARTE EXPERIMENTAL

Las siguientes pautas se aplican a todos los procedimientos experimentales descritos en la presente memoria. Todas las reacciones se llevaron a cabo con presión positiva de nitrógeno usando material de vidrio secado en horno, salvo que se indique otra cosa. Las temperaturas indicadas son externas (es decir, temperaturas de los baños), y son aproximadas. Los líquidos sensibles al aire y a la humedad se transfirieron mediante jeringa. Los reactivos se usaron como se recibieron. Los disolventes usados fueron los citados como “anhídros” por los proveedores. Las molaridades citadas para los reactivos en disolución son aproximadas, y se usaron sin valoración previa frente a la correspondiente referencia. Todas las reacciones se agitaron mediante barra agitadora, salvo que se indique otra cosa. El calentamiento se llevó a cabo usando baños de calentamiento que contienen aceite de silicona, salvo que se indique otra cosa. Las reacciones llevadas a cabo por irradiación de microondas (0 - 400 W a 2,45 GHz) se hicieron usando un instrumento Biotage[®] Initiator 2,0 con viales EXP de microondas Biotage[®] (0,2 - 20 ml) y septum y tapones. Los niveles de irradiación usados (es decir, alto, normal, bajo) basados en el disolvente y la carga iónica, se basaron en las especificaciones del proveedor. Las temperaturas de enfriamiento por debajo de -70°C se llevaron a cabo usando hielo seco/acetona o hielo seco/2-propanol. El sulfato magnésico y sulfato sódico usados como agente de secado eran de calidad anhidra, y se usaron de forma intercambiable. Los disolventes que se describe que se separaron “a vacío” o “a presión reducida”, se separaron por evaporación en rotavapor

La cromatografía en gel de sílice en fase normal, preparativa, se llevó a cabo bien usando un instrumento Teledyne ISCO[®] CombiFlash Companion con cartuchos de gel de sílice RediSep o ISCO[®] Gold (4 g-330 g), o un instrumento Analogix[®] IF280 con cartuchos de gel de sílice SF25 (4 g - 3-00g), o un instrumento Biotage[®] SP1 con cartuchos de gel de sílice HP[®] (10g - 100 g). La purificación por HPLC de fase inversa se llevó a cabo usando una columna YMC-pack (ODS-A 75x30 mm) como fase sólida, salvo que se indique lo contrario. Se usó una fase móvil de 25 ml/min A (CH₃CN-TFA al 0,1%): B (agua-TFA al 0,1%), se usó 10-80% de gradiente de A (10 min) con detección UV a 214 nM, salvo que se indique otra cosa.

Se usó un espectrómetro de masas de cuadrupolo sencillo PE Sciex[®] API 150 (PE Sciex, Thornhill, Ontario, Canadá) usando ionización por electropulverización en el modo de detección de ion positivo. El gas de nebulización se generó a partir de un generador de aire cero (Balston Inc., Haverhill, MA, EE.UU.) y se suministró a 4,6 kg/cm² (65 psi) y el gas cortina era nitrógeno muy puro suministrado desde un recipiente de nitrógeno líquido Dewar a 3,5 kg/cm² (50 psi). El voltaje aplicado a la aguja de electropulverización era 4,8 kV. El orificio se ajustó a 25 V y el espectrómetro de masas hizo el barrido a una velocidad de 0,5 barridos/s usando una masa de paso de 0,2 uam y recogiendo los datos del perfil.

10 Método A, LCMS. Las muestras se introdujeron en el espectrómetro de masas usando un automuestreador CTC[®] PAL (LEAP Technologies, Carrboro, NC) equipado con una jeringa Hamilton[®] de 10 µl que realizaba la inyección en una válvula de inyección de 10 puertos Valco. La bomba de HPLC era una Shimadzu[®] LC-10ADvp (Shimadzu Scientific Instruments, Columbia, MD) funcionando a 0,3 ml/min y un gradiente lineal de 15 4,5% de A a 90% de B en 3,2 min, con un mantenimiento de 0,4 min. La fase móvil estaba compuesta de 100% de (H₂O TFA al 0,02%) en el recipiente A y 100% de (CH₃CN TFA al 0,018%) en el recipiente B. La fase estacionaria es Aquasil[®] (C18) y las dimensiones de la columna eran 1 mm x 40 mm. La detección era por UV a 214 nm, detector evaporativo de dispersión de luz (ELSD) y MS.

20 Método B, LCMS. Alternativamente, se usó un sistema de HPLC analítico Agilent[®] 1100 con un LC/MS y funcionando a 1 ml/min y un gradiente lineal de 5% de A a 100% de B en 2,2 min con un mantenimiento de 0,4 min. La fase móvil estaba compuesta de 100% de (H₂O TFA al 0,02%) en el recipiente A y 100% de (CH₃CN 0,018% TFA) en el recipiente B. La fase estacionaria era Zobax[®] (C8) con un tamaño de partículas de 25 3,5 µm y las dimensiones de la columna eran 2,1 mm x 50 mm. La detección era por UV a 214 nm, detector evaporativo de dispersión de luz (ELSD) y MS.

Método C, LCMS. Alternativamente, se usó MDSSCIEX[®] API 2000 equipado con una columna capilar de (50 × 4,6 mm, 5 µm). La HPLC se hizo en un sistema de UPLC Agilent[®] 1200 equipado con una columna Zorbax[®] SB-C18 (50 × 4,6 mm, 1,8 µm) eluyendo con CH₃CN:tampón de NH₄OAc.

Los espectros de RMN ¹H se registraron a 400 MHz usando un instrumento Bruker[®] AVANCE 400 MHz, usando un ACD Spect manager v. 10 para el

reprocesamiento. Las multiplicidades indicadas son: s=singlete, d=doblete, t=tripleto, q=cuarteto, quint= quinteto, sxt= sexteto, m=multiplete, dd = doblete de dobletes, dt=doblete de tripletes etc. y an. indica señal ancha. Todas las RMN son en DMSO- d_6 salvo que se indique otra cosa.

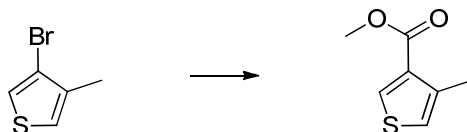
- 5 HPLC analítica: Los productos se analizaron por el sistema de cromatografía analítica Agilent[®] 1100, con columna de 4,5 x 75 mm Zorbax[®] XDB-C18 (3,5 μ m) a 2 ml/min con un gradiente de 4 min de 5% de CH₃CN (ácido fórmico al 0,1%) a 95% de CH₃CN (ácido fórmico al 0,1%) en H₂O (ácido fórmico al 0,1%) y un mantenimiento de 1 min.

10

Compuestos intermedios

Compuesto intermedio 1

4-Metiltiofeno-3-carboxilato de metilo



15

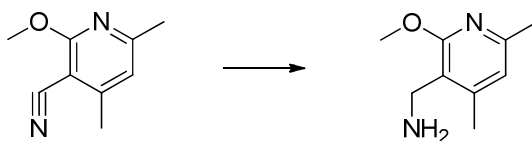
- A una disolución agitada de 3-bromo-4-metiltiofeno (20,0 g, 113 mmol) en THF (100 ml) en atmósfera de nitrógeno a t.a., se añadió gota a gota complejo de cloruro de isopropilmagnesio y cloruro de litio 1,3 N en THF (90 ml, 117 mmol). La reacción se agitó durante la noche. La reacción se enfrió a -78°C y después se trató con cloroformiato de metilo (12 ml, 155 mmol). La reacción se dejó calentar a t.a. y se agitó durante 1 h. La reacción se diluyó con EtOAc, se lavó con disolución saturada de NaHCO₃, se agitó durante 30 min (se formó una suspensión blanca que se quedó en la fase acuosa), se lavó con salmuera, se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró a vacío. El producto se destiló a vacío con un recorrido corto (de 4 a 2 mm Hg) de 44 a 50°C (baño de aceite de 50 a 75°C).
- 20
- 25 La fracción principal y la última se combinaron para dar el producto 4-metiltiofeno-3-carboxilato de metilo (13,2 g, 85 mmol, 74,8% de rendimiento) en forma de un líquido transparente. MS(ES) [M+H]⁺ 156,8.

Alternativamente, el compuesto intermedio 1 se preparó como sigue:

A una solución agitada de 3-bromo-4-metiltiofeno (250 g, 1412 mmol) en THF (1200 ml) en atmósfera de nitrógeno a t.a., se añadió gota a gota una disolución de complejo de cloruro de isopropilmagnesio y cloruro de litio (1,3 M en THF) (1086 ml, 1412 mmol) durante 1 hora. La mezcla de reacción se agitó a t.a. en una atmósfera de nitrógeno. Al día siguiente, la reacción se enfrió to -78°C en un baño de hielo seco/acetona y se trató con cloroformiato de metilo (153 ml, 1977 mmol). La reacción se dejó calentar a t.a. y se agitó durante 3 h. La mezcla de reacción después se diluyó con Et₂O (750 ml) y se agitó con disolución saturada de NaHCO₃ (300 ml) durante 20 min. La capa acuosa se extrajo de nuevo con Et₂O (2 x 250 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (250 ml), se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron a vacío para dar el compuesto bruto (239 g) en forma de un líquido amarillo pálido. El producto bruto se purificó por destilación a vacío en recorrido corto (~3 mm Hg). El producto destiló 50-55°C usando una manta calefactora. Se recogieron la fracción precedente, principal y la fracción final. La fracción principal y la fracción final posteriormente se combinaron para dar el producto que contenía una impureza menos polar. Después el residuo se cromatografió en una columna de gel de sílice eluyendo con un gradiente de Et₂O/hexanos al 0-20%. Las fracciones que correspondían al producto por TLC se combinaron y se concentraron a presión reducida para dar el 4-metiltiofeno-3-carboxilato de metilo (194 g, 1242 mmol, 88% de rendimiento) con ~90% de pureza, en forma de un aceite amarillo claro. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 8,08 (d, J=3,5 Hz, 1H), 6,94 - 6,89 (m, 1H), 3,85 (s, 3H), 2,48 (d, J=1,0 Hz, 3H). MS(ES) [M+H]⁺ 156,9.

Compuesto intermedio 2

(2-Metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metanamina



A una disolución enfriada (baño de agua helada) de 2-metoxi-4,6-dimetilnicotinonitrilo (10 g, 61,7 mmol) en Et₂O (200 ml) se añadió gota a gota LiAlH₄ 1 M en Et₂O (123 ml, 123 mmol). Se retiró el baño de hielo y la mezcla de reacción se agitó a t.a. durante 16 h. La mezcla de reacción se enfrió en un baño de agua helada y se inactivó con una cantidad mínima de agua (hasta que no se generó más hidrógeno). La reacción se filtró y el material insoluble se lavó con DCM/MeOH 10:1. Los filtrados orgánicos

combinados se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía en columna (MeOH/DCM al 0 – 30% ; 100 g-columna de gel de sílice HP) para dar la (2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metanamina (8,9 g) en forma de un semisólido amarillento.

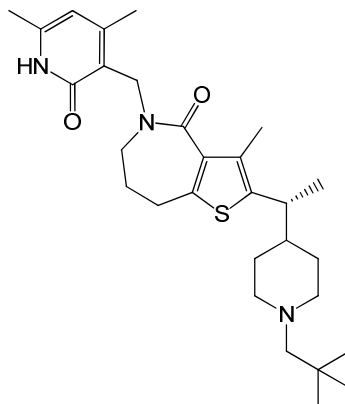
- 5 Alternativamente, el compuesto intermedio 2 se preparó como sigue:

A una suspensión enfriada (baño de agua helada) de 2-metoxi-4,6-dimetilnicotinonitrilo (50 g, 308 mmol) en Et₂O (1000 ml) se añadió gota a gota LiAlH₄ 2 M en THF (308 ml, 617 mmol) a lo largo de 30 min. La reacción se agitó durante 60 min, momento en el que se retiró el baño de hielo. La mezcla de reacción se agitó a t.a. durante 10 20 h. La mezcla de reacción se volvió a enfriar (baño de agua helada) y se inactivó gota a gota con H₂O (25 ml), seguido de NaOH 3 M (25 ml) y más H₂O (75 ml). Se retiró el baño de enfriamiento y se añadió MgSO₄ (10 cucharadas llenas). La mezcla se agitó durante 1 h, momento en el que se filtró a través de Celite[®]. Los sólidos se lavaron con Et₂O y las aguas madre se concentraron. El residuo se secó a vacío (Hivac) durante 2 h para dar la (2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metanamina (50 g, 98% de rendimiento) en forma de un 15 aceite amarillo que solidificó al congelar. MS(ES) [M+H]⁺ 167,0.

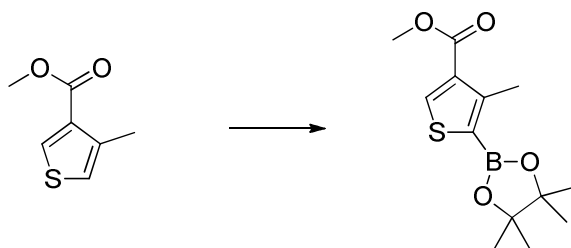
Ejemplos

Ejemplo 1

- 20 (R)-5-((4,6-Dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-neopentilpiperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona



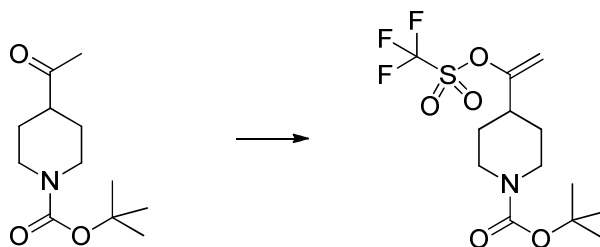
- a) 4-Metil-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)tiofeno-3-carboxilato de metilo



En un matraz de fondo redondo de 500 ml en atmósfera de Ar, se añadió el dímero (1,5-ciclooctadieno)(metoxi)iridio(I) (1,3 g, 1,961 mmol). Con agitación, se añadió 4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolano (32 ml, 222 mmol) mediante jeringa seguido de una disolución de 4,4'-di-terc-butil-2,2'-dipiridilo (1,04 g, 3,87 mmol) en n-hexano (75 ml) (la reacción se mantuvo en frío a 5-10°C en un baño de hielo). Después de agitar durante 1 minuto, se añadió 4-metiltiofeno-3-carboxilato de metilo (20,0 g, 128 mmol) (se observa evolución de gas). La reacción se agitó durante la noche a t.a. La reacción se evaporó hasta sequedad a vacío y se purificó por cromatografía en gel de sílice (Isco® RediSep Rf Gold 330 g, EtOAc en hexanos de 0 a 10%). Las fracciones puras se combinaron y evaporaron hasta sequedad para dar el 4-metil-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)tiofeno-3-carboxilato de metilo (33,1 g, 117 mmol, 92% de rendimiento) en forma de un aceite incoloro, que solidificó en un sólido blanco céreo con vacío. MS(ES) [M+H]⁺ 200,9 (ácido borónico), 283,1 (boronato).

15

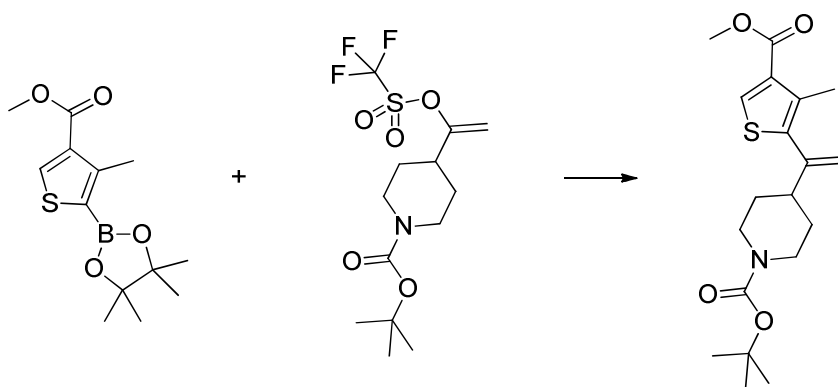
b) 4-(1-(((Trifluorometil)sulfonyl)oxi)vinil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo



A una solución agitada de 4-acetilpiperidina-1-carboxilato de terc-butilo (25 g, 110 mmol) en THF (250 ml) a -78 °C en atmósfera de nitrógeno se añadió gota a gota NaHMDS 1 N en THF (130 ml, 130 mmol). La reacción se agitó a -78 °C durante 1 h. Después se añadió gota a gota una disolución de 1,1,1-trifluoro-N-(piridin-2-il)-N-(((trifluorometil)sulfonyl)metanosulfonamida (45 g, 126 mmol) en THF (100 ml) a lo largo de 15 min. La reacción se agitó durante 1 h a -78 °C, después a 0 °C durante 30 min. La reacción se inactivó con agua fría (500 ml), se extrajo con EtOAc (2 x 250 ml), se lavó con

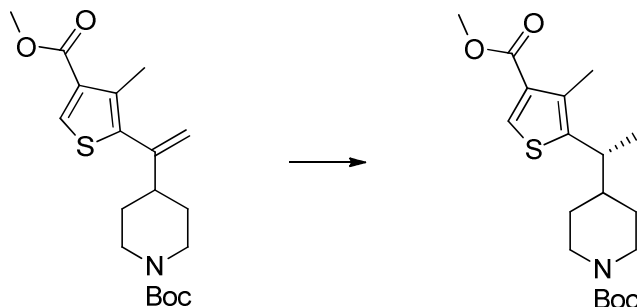
salmuera, se secó (Na_2SO_4), se filtró y se concentró a vacío. El producto bruto se purificó por cromatografía en gel de sílice (Isco[®] RediSep Rf Gold 330 g, EtOAc en hexanos de 0 a 20%). (UV negativo, visualizado por carbonización con H_2SO_4 en EtOH.) Las fracciones que contenían producto se combinaron y se evaporaron hasta sequedad para dar el 4-(1-
 5 (((trifluorometil)sulfonyl)oxi)vinil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo (29,1 g, 81 mmol, 73,6% de rendimiento) en forma de un aceite incoloro. (Los análisis por LCMS y RMN ^1H mostraron ~16% de N-Boc-4-etinilpiperidina) MS(ES) $[\text{M}+\text{H}]^+$ 304,0 (-isobutileno), 283,1 (-Boc).

10 c) 4-(1-(4-(Metoxycarbonil)-3-metiltiofen-2-il)vinil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo



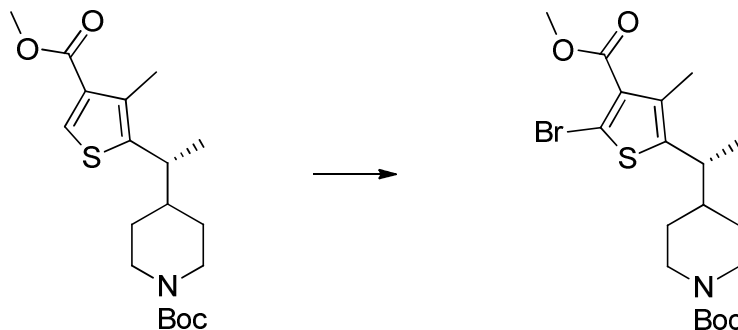
Una disolución agitada de 4-metil-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)tiofeno-3-carboxilato de metilo (50 g, 177 mmol), 4-(1-
 (((trifluorometil)sulfonyl)oxi)vinil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo (76 g, 211 mmol)
 15 y Na_2CO_3 (45 g, 536 mmol) en 1,4-dioxano (450 ml) y agua (150 ml) se purgó con N_2 mediante burbujeo durante 5 min. La reacción se cargó con $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (8 g, 6,92 mmol) y se calentó a 70°C en atmósfera de N_2 durante 1 h (evolución de gas vigorosa). La reacción se diluyó con EtOAc (500 ml), se lavó con agua (500 ml) y salmuera, se secó (Na_2SO_4), y se concentró a vacío. El residuo se purificó por cromatografía en gel de sílice (Isco[®]
 20 RediSep Rf Gold 330 g, EtOAc/hexanos de 0 a 20%) para dar el 4-(1-(4-(metoxycarbonil)-3-metiltiofen-2-il)vinil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo (58,8 g, 161 mmol, 91% de rendimiento) en forma de un aceite amarillo claro. MS(ES) $[\text{M}+\text{H}]^+$ 266,1 (-Boc), $[\text{M}+\text{H}]^+$ 278,0 (-isobutileno, -MeOH), $[\text{M}+\text{H}]^+$ 310,1 (-isobutileno), $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 388,1.

d) (R)-4-(1-(4-(metoxycarbonil)-3-metiltiofen-2-il)etil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo



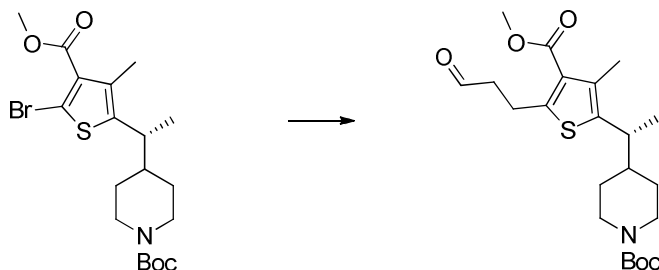
Una disolución de 4-(1-(4-(metoxycarbonil)-3-metiltiofen-2-il)vinil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo (31,0 g, 85 mmol) en DCM (500 ml) se purgó con una corriente de N₂ durante 10 min. A la disolución purgada se añadió (*R,R*)-[COD]Ir[cy₂PThrePHOX] (2,64 g, 1,527 mmol). La mezcla se cargó con H₂ (3,5 kg/cm² (50 psi)) y se agitó (reactor Parr) durante 22 h, momento en el que se filtró a través de Celite[®], se lavó con DCM (50 ml), y se concentró. La purificación del residuo (columna de sílice de 330 gramos Isco[®]; gradiente B: 3-30%; A = heptano; B = EtOAc) dio el (R)-4-(1-(4-(metoxycarbonil)-3-metiltiofen-2-il)etil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo (30,9 g, 80 mmol, 94% de rendimiento) en forma de un aceite espeso. MS(ES) [M+H]⁺ 390,2. Se determinó que la pureza óptica del producto era 97,6% de ee por HPLC quiral (Chiralpak AY-H, 5 micrómetros, 4,6 mm x 150 mm; 245, 250 nm UV; n-heptano:EtOH:isopropilamina 90:10:0,1, isocrático, 1,0 ml/min). La configuración absoluta se confirmó por cristalografía de rayos X de moléculas pequeñas de la sal del ácido L-(+)-tartárico de la correspondiente amina desprotegida de Boc.

e) (R)-4-(1-(5-bromo-4-(metoxycarbonil)-3-metiltiofen-2-il)etil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo



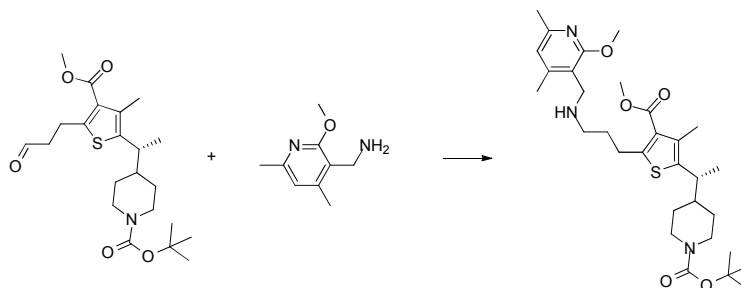
A una disolución de (R)-4-(1-(4-(metoxycarbonil)-3-metiltiofen-2-il)etil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo (33,2 g, 90 mmol) en DMF (500 ml) se añadió NBS (20,9 g, 117 mmol). La reacción se mantuvo durante aproximadamente 4 h, momento en el que se diluyó con agua y se extrajo con Et₂O (1,5 litros). Los extractos orgánicos se lavaron con
 5 agua, salmuera, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se evaporaron. La purificación del residuo por cromatografía en columna (EtOAc/hexanos de 5 a 20%) dio el (R)-4-(1-(5-bromo-4-(metoxycarbonil)-3-metiltiofen-2-il)etil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo (34 g, 72,4 mmol, 80% de rendimiento). MS(ES) [M+H]⁺ 468,2, 470,2 (M+Na).

10 f) (R)-4-(1-(4-(Metoxycarbonil)-3-metil-5-(3-oxopropil)tiofen-2-il)etil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo



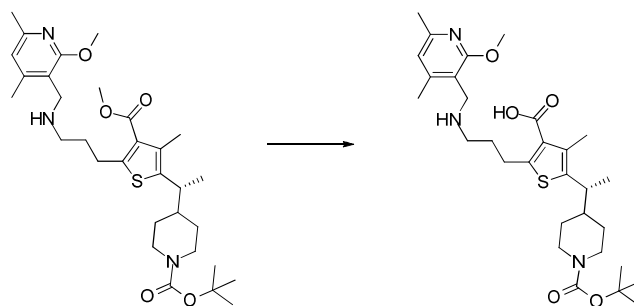
A una disolución de (R)-4-(1-(5-bromo-4-(metoxycarbonil)-3-metiltiofen-2-il)etil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo (50 g, 112 mmol) en DMF (1 L) se añadieron
 15 prop-2-en-1-ol (0,023 litros, 560 mmol), Bu₄NCl (37,4 g, 134 mmol) y NaHCO₃ (37,6 g, 448 mmol). La mezcla de reacción se desgasificó con N₂ y se añadió Pd(OAc)₂ (3,77 g, 16,8 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 65°C durante 2 h, momento en el que se dejó enfriar a t.a. La mezcla se diluyó con agua (1,3 litros) y se extrajo con Et₂O (2x). Los extractos combinados se secaron (MgSO₄) y se concentraron. El residuo se purificó por
 20 cromatografía en columna (gel de sílice, EtOAc/hexanos de 10 a 40%) para dar el (R)-4-(1-(4-(metoxycarbonil)-3-metil-5-(3-oxopropil)tiofen-2-il)etil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo (42 g, 94 mmol, 84% de rendimiento) en forma de un aceite amarillo pálido. MS(ES) [M+H]⁺ 446,2 (M+Na) 464,3 (M+MeCN).

25 g) (R)-4-(1-(5-(3-(((2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil)amino)propil)-4-(metoxycarbonil)-3-metiltiofen-2-il)etil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo



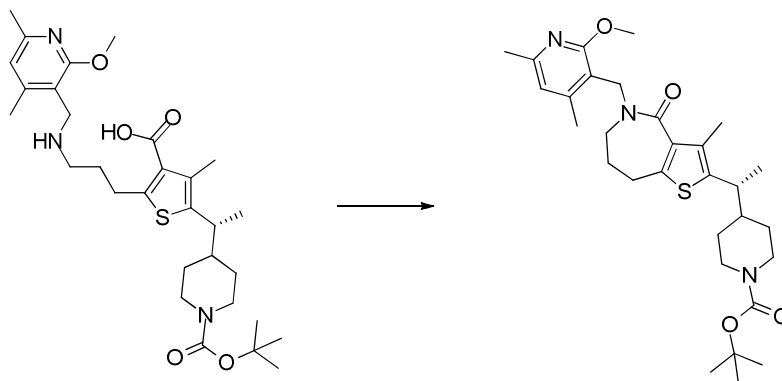
A una disolución de (R)-4-(1-(4-(metoxycarbonil)-3-metil-5-(3-oxopropil)tiofen-2-il)etil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo (36,3 g, 86 mmol) en MeOH (600 ml) se añadió (2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metanamina (16,38 g, 99 mmol) en forma de sólido congelado. La reacción se mantuvo a t.a. durante 1,5 h. Después la reacción se enfrió en un baño de hielo durante 10 min, momento en el que se añadió NaBH₄ (8,11 g, 214 mmol) en forma de sólido (algo de formación de espuma/evolución de gas). La mezcla se agitó durante 15 min. El baño de hielo se retiró y la reacción se agitó a t.a. durante 2 h. La reacción se volvió a enfriar en un baño de hielo y se inactivó con disolución acuosa saturada de NH₄Cl (200 ml). Se retiró el baño de hielo y la reacción se concentró a vacío hasta ~1/4 de volumen. La mezcla se diluyó con disolución acuosa saturada de NH₄Cl y se extrajo con EtOAc (2x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con disolución acuosa saturada de NH₄Cl, se secaron sobre MgSO₄ (agitado durante 15 min), se filtraron a través de Celite[®], y se concentraron para dar el (R)-4-(1-(5-(3-(((2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil)amino)propil)-4-(metoxycarbonil)-3-metiltiofen-2-il)etil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo (55,5 g, 87 mmol basado en 90% de pureza por HPLC, 100% de rendimiento) en forma de un aceite. El material se secó a vacío durante 30 min. MS(ES) [M+H]⁺ 574,5.

h) Ácido (R)-5-(1-(1-(terc-butoxicarbonil)piperidin-4-il)etil)-2-(3-(((2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil)amino)propil)-4-metiltiofeno-3-carboxílico



A una disolución de (R)-4-(1-(5-(3-(((2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil)amino)propil)-4-(metoxicarbonil)-3-metiltiofen-2-il)etil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo (55 g, 96 mmol) en MeOH (600 ml) y THF (130 ml) se añadió NaOH 5 N (192 ml, 959 mmol). La reacción se calentó a 63°C durante 22 h, momento en el que se concentró a vacío. El residuo se diluyó con agua (400 ml) y DCM (400 ml) y se enfrió en un baño de hielo. A la mezcla se añadió HCl 6 N (158 ml, 949 mmol) para ajustar el pH a 5-6 (papel). La mezcla se agitó bien y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con DCM (200 ml) y los extractos orgánicos combinados se secaron sobre MgSO₄ (agitado durante 30 min), se filtraron a través de Celite® y se concentraron para dar el ácido (R)-5-(1-(1-(terc-butoxicarbonil)piperidin-4-il)etil)-2-(3-(((2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil)amino)propil)-4-metiltiofeno-3-carboxílico (52,5 g, 87 mmol, 91% de rendimiento). El residuo se secó a vacío durante 2 h. MS(ES) [M+H]⁺ 560,4.

i) (R)-4-(1-(5-((2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil)-3-metil-4-oxo-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-2-il)etil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo

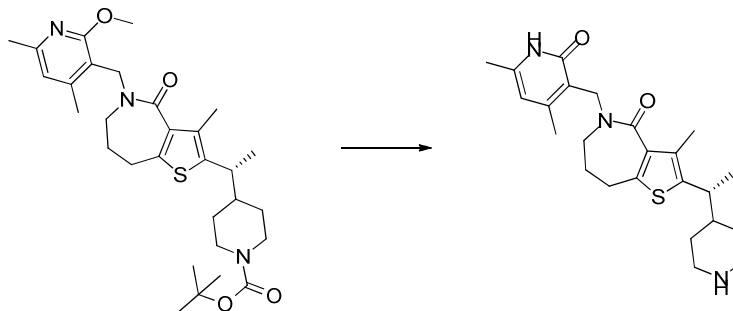


A una disolución de ácido (R)-5-(1-(1-(terc-butoxicarbonil)piperidin-4-il)etil)-2-(3-(((2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil)amino)propil)-4-metiltiofeno-3-carboxílico (52,5 g, 94 mmol), EDC (21,58 g, 113 mmol) y HOAt (15,32 g, 113 mmol) en DMSO (400 ml) se añadió NMM (25,8 ml, 234 mmol). La reacción se mantuvo durante 18 h, momento en el que se vertió lentamente en agua helada (1500 ml). La mezcla se agitó enérgicamente (agitador de hélice) durante 40 min. La mezcla se filtró y los sólidos se lavaron con agua y se secaron al aire durante ~1 h. El sólido todavía húmedo se disolvió en DCM y se lavó con disolución acuosa saturada de NH₄Cl, se secó (Mg₂SO₄), se filtró a través de Celite®, y se concentró. La purificación del residuo por cromatografía en columna (columna de sílice

de 330 g Isco[®]; gradiente B: 4-40%; A = heptano. B = EtOAc/EtOH 3:1) dio el (R)-4-(1-(5-((2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil)-3-metil-4-oxo-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-2-il)etil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo (34,3 g, 60 mmol, 64% de rendimiento) en forma de un sólido amarillo vítreo. MS(ES) [M+H]⁺ 542,4.

5

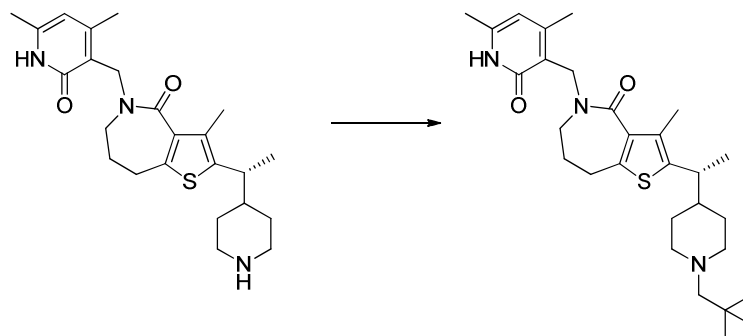
j) (R)-5-((4,6-Dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona



A una disolución de (R)-4-(1-(5-((2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil)-3-metil-4-oxo-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-2-il)etil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo (34,3 g, 63,3 mmol) en MeOH (450 ml) se añadió HCl 4 N en 1,4-dioxano (222 ml, 886 mmol). La reacción se mantuvo durante 15 min a t.a., después se calentó a 70°C durante 24 h. La reacción se dejó enfriar a t.a. y se concentró. El residuo se diluyó con DCM (500 ml) y agua (300 ml) y el pH se ajustó a aproximadamente 11 con NH₄OH concentrado. La mezcla se agitó durante 15 min, momento en el que se separaron las capas. La capa acuosa se extrajo con DCM y los extractos orgánicos combinados se secaron (Mg₂SO₄), se filtraron y se concentraron. El residuo se secó a vacío durante 18 h para dar la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona (29,3 g, 65,1 mmol, 100% de rendimiento). MS(ES) [M+H]⁺ 428,3.

20

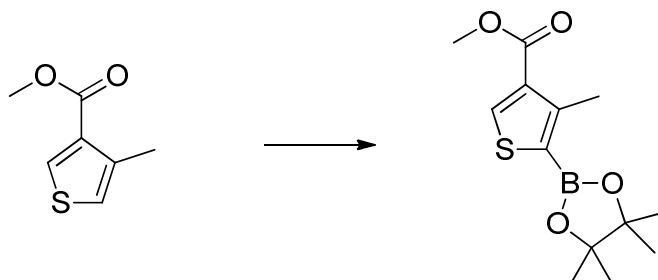
k) (R)-5-((4,6-Dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-neopentilpiperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona



A una disolución de (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona (1,15 g, 2,69 mmol) en DCE (30 ml) se añadió pivalaldehído (0,747 ml, 6,72 mmol). La reacción se agitó durante 5 min, momento en el que se añadió AcOH (0,308 ml, 5,38 mmol). Después de 15 min, se añadió $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (1,710 g, 8,07 mmol) en forma de sólido y la reacción se agitó a t.a. durante 18 h. La reacción se diluyó con DCM (20 ml) y H_2O . El pH se ajustó a 10 con una combinación de disolución saturada de NaHCO_3 y disolución saturada de Na_2CO_3 . La mezcla se agitó durante 30 min y se separaron las capas. La capa acuosa se extrajo con DCM y los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Mg_2SO_4 , se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía en columna (columna de sílice de 40 g Isco[®]; gradiente B: 15-90%; A = heptano; B = EtOAc/EtOH + NH_4OH al 1%, 3:1). El residuo purificado se trató con DCM y se concentró. Después el residuo se trató con TBME y se concentró (2x). El sólido se secó más en un horno con vacío a 45 °C durante 4 h para dar la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-neopentilpiperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona (912 mg, 1,777 mmol, 66,1% de rendimiento). RMN ^1H ($\text{DMSO}-d_6$) δ 11,58 (s, 1H), 5,91 (s, 1H), 4,61 (d, $J=13,7$ Hz, 1H), 4,50 (d, $J=13,4$ Hz, 1H), 3,16-3,28 (m, 2H), 2,75-2,90 (m, 2H), 2,62-2,73 (m, 3H), 1,93-2,20 (m, 13H), 1,74 (d, $J=8,9$ Hz, 1H), 1,65 (quin, $J=6,7$ Hz, 2H), 1,33 (d, $J=9,4$ Hz, 1H), 1,11-1,28 (m, 7H), 0,81 (s, 9H). MS(ES) $[\text{M}+\text{H}]^+$ 498,4.

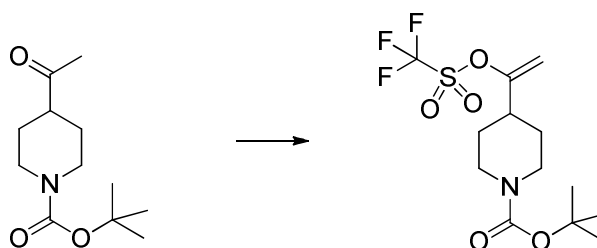
Alternativamente, el compuesto del ejemplo 1 se preparó como sigue:

a') 4-Metil-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)tiofeno-3-carboxilato de metilo



- 5 A una mezcla enfriada (baño de hielo) de dímero de (1,5-ciclooctadieno)(metoxi)iridio(I) (1,6 g, 2,41 mmol) y 4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolano (25 ml, 173 mmol) se añadió una disolución de 4,4'-di-terc-butil-2,2'-dipiridilo (1,3 g, 4,84 mmol) en n-hexano (75 ml). Después de agitar durante 1 min, se añadió 4-metiltiofeno-3-carboxilato de metilo (25 g, 160 mmol) (se observa evolución de
- 10 gas). La reacción se dejó calentar a t.a. y se agitó durante la noche. La reacción se concentró y el residuo se purificó por cromatografía en gel de sílice (EtOAc/hexanos 0 – 10%) para dar el 4-metil-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)tiofeno-3-carboxilato de metilo (29,2 g, 104 mmol, 65% de rendimiento) en forma de un aceite incoloro que solidificó en un sólido blanco céreo con vacío. MS(ES) $[M+H]^+$ 200,9 (ácido
- 15 borónico), 283,1 (boronato).

b') 4-(1-(((Trifluorometil)sulfonil)oxi)vinil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo

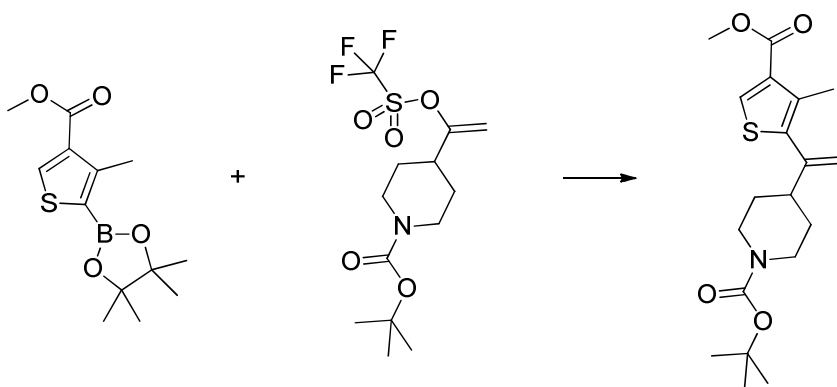


- A una disolución enfriada (-78 °C) de 4-acetilpiperidina-1-carboxilato de terc-butilo (25 g, 110 mmol) en THF (250 ml) en atmósfera de nitrógeno se añadió gota a gota bis(trimetilsilil)amida de sodio 1 N en THF (130 ml, 130 mmol). La reacción se mantuvo a
- 20 -78°C durante 1 h, momento en el que se añadió gota a gota una disolución de 1,1,1-trifluoro-N-(piridin-2-il)-N-(((trifluorometil)sulfonil)metanosulfonamida (45 g, 126 mmol)

en THF (100 ml) a lo largo de 15 min. La reacción se mantuvo durante 1 h a -78°C, después a 0°C durante 30 min. La reacción se inactivó con agua fría (500 ml), se extrajo con EtOAc (2 x 250 ml), se lavó con salmuera, se secó (Na₂SO₄), y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía en gel de sílice (EtOAc/hexanos al 0 – 20%) para dar el

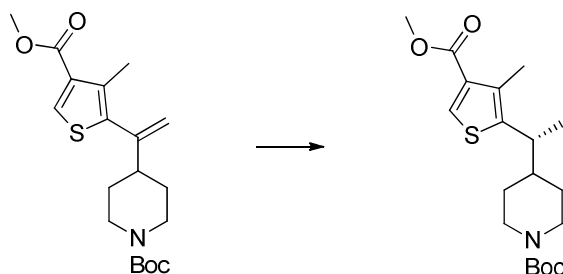
4-(1-(((trifluorometil)sulfonil)oxi)vinil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo (28,8 g, 80 mmol, 73% de rendimiento) en forma de un aceite incoloro. MS(ES) [M+H]⁺ -isobutileno 304,0, [M+H]⁺ -Boc 260,0.

c') 4-(1-(4-(Metoxycarbonil)-3-metiltiofen-2-il)vinil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo



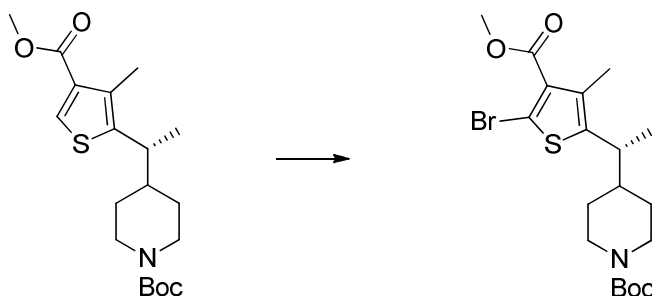
Una mezcla de 4-metil-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)tiofeno-3-carboxilato de metilo (33 g, 117 mmol), 4-(1-(((trifluorometil)sulfonil)oxi)vinil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo (50 g, 139 mmol) y NaHCO₃ (30 g, 357 mmol) en 1,4-dioxano (300 ml) y agua (100 ml) se purgó con nitrógeno. La reacción se cargó con tetrakis(trifenilfosfina)paladio(0) (6,8 g, 5,88 mmol) y se calentó a 70°C en atmósfera de N₂ durante 2 h. La reacción se diluyó con EtOAc (300 ml), se lavó con agua (300 ml) y salmuera, se secó (Na₂SO₄), y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía en gel de sílice (EtOAc/hexanos al 0 – 20%) para dar el 4-(1-(4-(metoxycarbonil)-3-metiltiofen-2-il)vinil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo (34,5 g, 81% de rendimiento) en forma de un aceite amarillo claro. MS(ES) [M+H]⁺ -Boc 266,1, [M+H]⁺ -isobutileno -MeOH 278,0, [M+H]⁺ -isobutileno 310,1, [M+Na]⁺ 388,1.

d') (R)-4-(1-(4-(Metoxycarbonil)-3-metiltiofen-2-il)etil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo



Una disolución de 4-(1-(4-(metoxycarbonil)-3-metiltiofen-2-il)vinil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo (42,7 g, 117 mmol) y (*R,R*)-[COD]Ir[cy₂PThrePHOX] (2,83 g, 1,636 mmol) en DCM (250 ml) se hidrogenó a una presión de hidrógeno de 4,2 kg/cm² (60 psi) durante 15 h en un agitador Parr. La mezcla se concentró y el residuo se purificó por cromatografía en columna (EtOAc/hexanos al 0 – 25%) para proporcionar el (R)-4-(1-(4-(metoxycarbonil)-3-metiltiofen-2-il)etil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo (38,3 g, 89% de rendimiento) en forma de un aceite amarillo claro. La HPLC quiral (Chiralpak[®] AY-H, 5 micrómetros (4,6 mm x 150 mm); UV 240, 250 nm; 1,0 ml/min; n-heptano:EtOH:isopropilamina 90:10:0,1 (isocrático)) mostró que el material tenía 98,5% de ee. MS(ES) [M+H]⁺ 368,3.

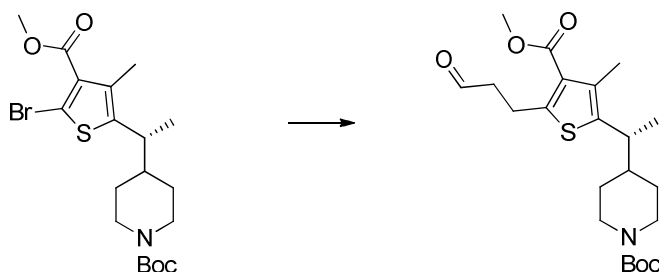
e') (R)-4-(1-(5-Bromo-4-(metoxycarbonil)-3-metiltiofen-2-il)etil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo



A una disolución enfriada (0 °C) de (R)-4-(1-(4-(metoxycarbonil)-3-metiltiofen-2-il)etil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo (72,5 g, 200 mmol) en DMF (200 ml) se añadió NBS (49,1 g, 276 mmol). Se retiró el baño de hielo y la mezcla se agitó a t.a. durante 6 h. La mezcla se vertió en agua y se extrajo con Et₂O (3 x 400 ml). Los extractos orgánicos combinados se concentraron hasta la mitad del volumen, se lavaron con

disolución acuosa de ditionito sódico y se concentraron hasta sequedad. La purificación del residuo por cromatografía en columna (EtOAc/hexanos al 0 – 30%) dio el (R)-4-(1-(5-bromo-4-(metoxycarbonil)-3-metiltiofen-2-il)etil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo (79,8 g, 91% de rendimiento) en forma de un aceite amarillo claro. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 4,24 - 3,99 (m, 2H), 3,92 - 3,85 (m, 3H), 2,89 (dd, *J*=7,1, 8,4 Hz, 1H), 2,72 - 2,51 (m, 2H), 2,23 (s, 3H), 1,90 - 1,79 (m, 1H), 1,54 - 1,48 (m, 1H), 1,45 (s, 9H), 1,31 - 1,27 (m, 1H), 1,26 - 1,22 (m, 3H), 1,20 - 1,02 (m, 2H). MS(ES) [M+H]⁺ 468,2, 470,2 (M+Na).

f) (R)-4-(1-(4-(Metoxycarbonil)-3-metil-5-(3-oxopropil)tiofen-2-il)etil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo

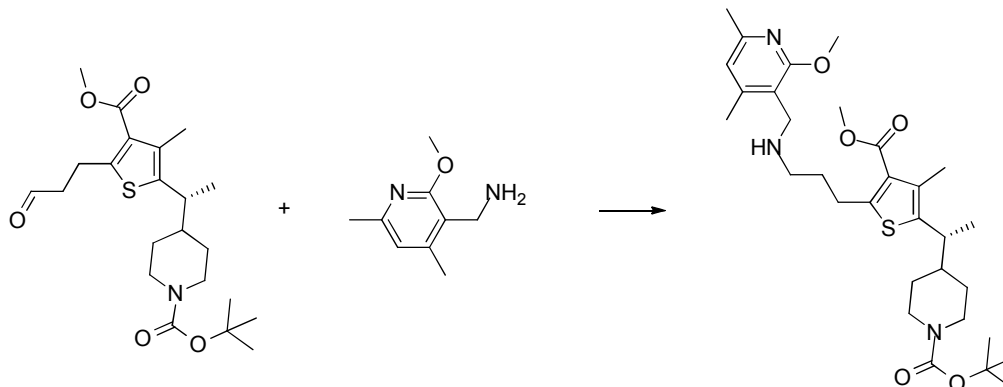


A una disolución de (R)-4-(1-(5-bromo-4-(metoxycarbonil)-3-metiltiofen-2-il)etil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo (44 g) en MeOH (450 ml) se añadió carbón activado Darco[®] (40 g). La mezcla se calentó a 45 °C durante 90 min, momento en el que se filtró a través de Celite[®] y se lavó con MeOH caliente (500 ml). El filtrado se concentró y el residuo se disolvió en EtOAc y heptano. La disolución se concentró y se secó a vacío (Hivac) durante 1 h para dar 38 g del material de partida de nuevo.

A una disolución de (R)-4-(1-(5-bromo-4-(metoxycarbonil)-3-metiltiofen-2-il)etil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo (38 g, 85 mmol) en DMF (400 ml) se añadieron prop-2-en-1-ol (20,3 ml, 300 mmol), Bu₄NCl (23,7 g, 85 mmol) y Na₂CO₃ (22,6 g, 213 mmol). La mezcla de reacción se desgasificó con N₂ durante 10 – 15 min y se añadió Pd(OAc)₂ (2,9 g, 12,8 mmol). Se extrajo el aire del recipiente de reacción y se volvió a llenar con N₂ (3x) y se calentó a 65°C durante 40 min. La reacción se dejó enfriar a t.a., se vertió en disolución saturada de NH₄Cl (1200 ml), y se extrajo con Et₂O (2x). Los extractos combinados se secaron (MgSO₄), se filtraron a través de Celite[®], y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía en columna (EtOAc/heptanos al 3 – 25%) para dar el (R)-4-(1-(4-(metoxycarbonil)-3-metil-5-(3-oxopropil)tiofen-2-

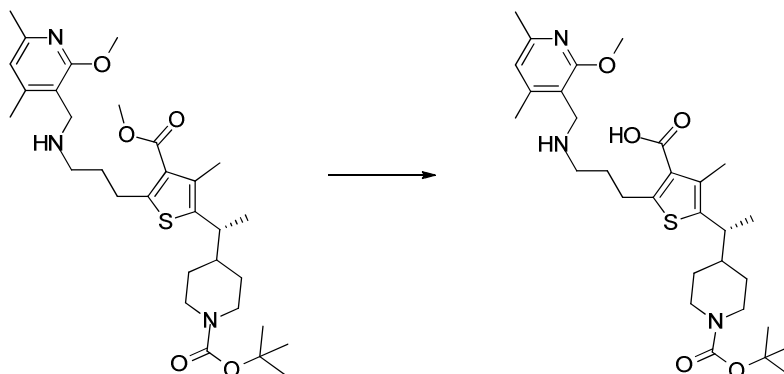
il)etil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo (26,2 g, 65% de rendimiento). MS(ES) $[M+H]^+$ 446,4 (M+Na).

g') (R)-4-(1-(5-(3-(((2-Metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil)amino)propil)-4-(metoxycarbonil)-3-metiltiofen-2-il)etil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo



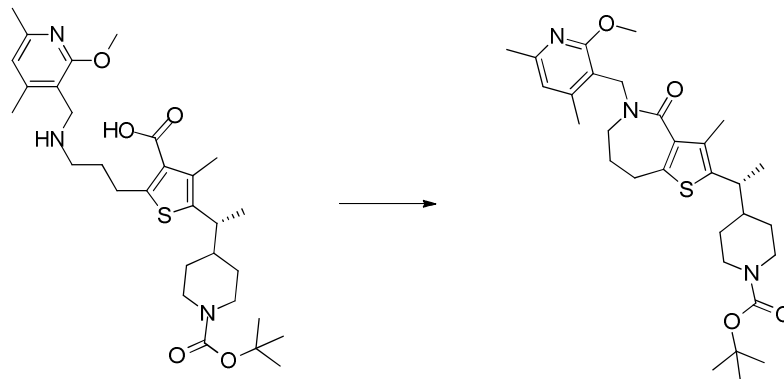
A una disolución de (R)-4-(1-(4-(metoxycarbonil)-3-metil-5-(3-oxopropil)tiofen-2-il)etil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo (20 g, 47 mmol) en MeOH (300 ml) se añadió (2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metanamina (9,4 g, 57 mmol) en forma de un sólido congelado. La reacción se mantuvo a t.a. durante 1,5 h. Después la reacción se enfrió en un baño de hielo durante 10 min, momento en el que se añadió NaBH_4 (4,5 g, 120 mmol) como un sólido (formación de espuma/evolución de gas vigorosa). La mezcla se agitó durante 15 min. Se retiró el baño de hielo y la reacción se agitó a t.a. durante 1 h. La reacción se volvió a enfriar en un baño de hielo y se inactivó con disolución acuosa saturada de NH_4Cl (120 ml). Se retiró el baño de hielo y la reacción se concentró hasta ~1/4 volumen. La mezcla se diluyó con disolución acuosa saturada de NH_4Cl y se extrajo con EtOAc (2x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO_4 (agitado durante 15 min), se filtraron a través de Celite[®], y se concentraron para dar el (R)-4-(1-(5-(3-(((2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil)amino)propil)-4-(metoxycarbonil)-3-metiltiofen-2-il)etil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo (27 g, 99% de rendimiento) en forma de una espuma blanca. MS(ES) $[M+H]^+$ 574,5.

h') Ácido (R)-5-(1-(1-(terc-butoxicarbonil)piperidin-4-il)etil)-2-(3-(((2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil)amino)propil)-4-metiltiofeno-3-carboxílico



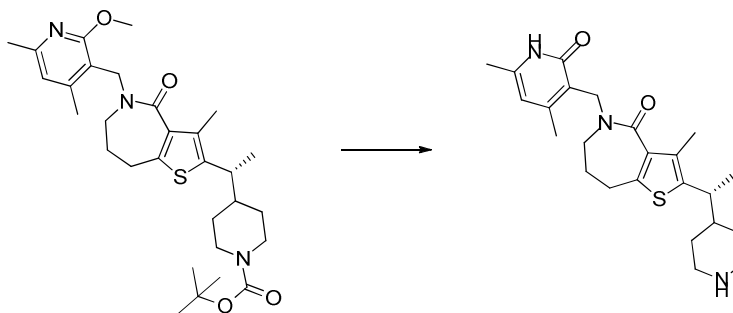
A una disolución de (R)-4-(1-(5-(3-(((2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil)amino)propil)-4-(metoxicarbonil)-3-metiltiofen-2-il)etil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo (27 g, 47 mmol) en MeOH (400 ml) y THF (80 ml) se añadió NaOH 5 N (93 ml, 470 mmol). La reacción se calentó a 63°C durante 18 h, momento en el que se concentró. El residuo se diluyó con agua (150 ml) y DCM (300 ml) y se enfrió en un baño de hielo. Se añadió a la mezcla HCl 6 N (77 ml, 460 mmol) para ajustar el pH a 5-6. La mezcla se agitó bien y se separaron las capas. La capa acuosa se extrajo con DCM (200 ml) y los extractos orgánicos combinados se secaron sobre MgSO₄ (agitado durante 30 min), se filtraron a través de Celite[®] y se concentraron para dar el ácido (R)-5-(1-(1-(terc-butoxicarbonil)piperidin-4-il)etil)-2-(3-(((2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil)amino)propil)-4-metiltiofeno-3-carboxílico (25 g, 80% de rendimiento). MS(ES) [M+H]⁺ 560,4.

i') (R)-4-(1-(5-((2-Metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil)-3-metil-4-oxo-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-2-il)etil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo



A una disolución de ácido (R)-5-(1-(1-(terc-butoxicarbonil)piperidin-4-il)etil)-2-(3-
 (((2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil)amino)propil)-4-metiltiofeno-3-carboxílico (25,2
 g, 45 mmol), EDC (10,4 g, 54 mmol) y HOAt (6,74 g, 49,5 mmol) en DMSO (200 ml) se
 añadió NMM (12,4 ml, 113 mmol). La reacción se mantuvo durante 18 h, momento en el
 5 que se vertió lentamente en agua helada (1000 ml). La mezcla se agitó enérgicamente
 (agitador de hélice) durante 30 min. La mezcla se filtró y los sólidos se lavaron con agua y
 se secaron al aire durante 20 min. El sólido todavía húmedo se disolvió en DCM y se lavó
 con disolución acuosa saturada de NH_4Cl , se secó (MgSO_4), se filtró a través de Celite[®], y
 se concentró. La purificación del residuo por cromatografía en columna (EtOAc/EtOH 3:1
 10 en heptano al 8 – 40%) dio el (R)-4-(1-(5-((2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil)-3-
 metil-4-oxo-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-2-il)etil)piperidina-1-carboxilato de
 terc-butilo (18,2 g, 72% de rendimiento). MS(ES) $[\text{M}+\text{H}]^+$ 542,3.

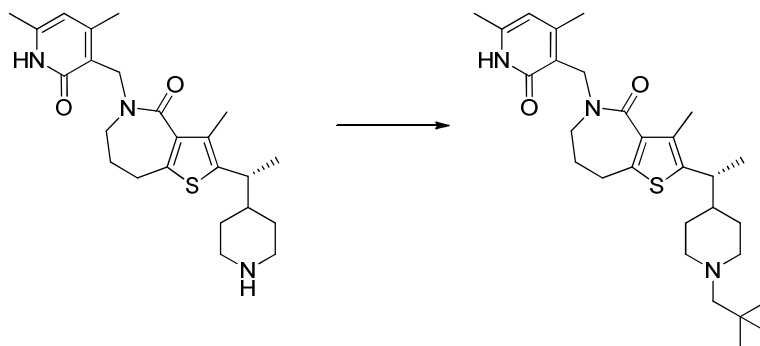
j') (R)-5-((4,6-Dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(piperidin-4-
 15 il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona



A una disolución de (R)-4-(1-(5-((2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil)-3-metil-4-
 oxo-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-2-il)etil)piperidina-1-carboxilato de terc-
 butilo (18,2 g, 33,6 mmol) en MeOH (200 ml) se añadió HCl 4 N en 1,4-dioxano (126 ml,
 20 504 mmol). La reacción se mantuvo durante 15 min a t.a., después se calentó a 70°C
 durante 30 h. La reacción se dejó enfriar a t.a. y se concentró. El residuo se diluyó con
 DCM (300 ml) y agua (150 ml) y el pH se ajustó a ~11 con NH_4OH concentrado. La
 mezcla se agitó durante 15 min, momento en el que se separaron las capas. La capa acuosa
 se extrajo con DCM (2x) y los extractos orgánicos combinados se secaron (MgSO_4), se
 25 filtraron y se concentraron. El residuo se disolvió en TBME (200 ml) y se agitó con
 movimientos circulares en un baño a agua a 45 °C durante 30 min. Se formó un sólido
 blanco. La mezcla se concentró y se secó más a vacío (Hivac) durante 4 h para dar la (R)-

5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona (15,6 g, 106% de rendimiento) en forma de un sólido blanquecino que se usó sin más purificación. MS(ES) $[M+H]^+$ 428,3.

- 5 k') (R)-5-((4,6-Dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-neopentilpiperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona



- A una disolución de (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona (28 g, 66 mmol) en DCE (400 ml) se añadió pivalaldehído (15 ml, 140 mmol). La reacción se agitó durante 3 min, momento en el que se añadió AcOH (7,9 ml, 140 mmol). Después de 10 min, se añadió $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (41,6 g, 196 mmol) en forma de un sólido y la reacción se agitó a t.a. durante 40 h. La reacción se vertió en hielo y DCM y se agitó bien. El pH se ajustó a ~ 10 con una combinación de una disolución saturada de NaHCO_3 y disolución saturada de Na_2CO_3 . La mezcla se agitó durante 15 min y se separaron las capas. La capa acuosa se extrajo con DCM y los extractos orgánicos combinados se secaron sobre MgSO_4 , se filtraron a través de Celite[®] y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía en columna (EtOAc/EtOH + NH_4OH al 1% 3:1 en heptano al 10 – 80%). El residuo purificado se secó con vacío (Hivac) durante 18 h para dar la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-neopentilpiperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona (24,5 g, 74% de rendimiento). RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 0,81 (s, 9 H) 1,07 - 1,29 (m, 6 H) 1,33 (d, $J=9,63$ Hz, 1 H) 1,65 (quin, $J=6,72$ Hz, 2 H) 1,74 (d, $J=10,14$ Hz, 1 H) 1,92 - 2,05 (m, 3 H) 2,06 - 2,20 (m, 10 H) 2,62 - 2,73 (m, 3 H) 2,74 - 2,91 (m, 2 H) 3,16 - 3,29 (m, 2 H) 4,50 (d, $J=13,43$ Hz, 1 H) 4,61 (d, $J=13,69$ Hz, 1 H) 5,90 (s, 1 H) 11,57 (s, 1 H). MS(ES) $[M+H]^+$ 498,4.

Preparación de la sal de ácido clorhídrico cristalina del compuesto del ejemplo 1

La (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-neopentilpiperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona (20 mg) se combinó con acetona (0,2 ml). La mezcla se calentó a 40°C con agitación. A la disolución se añadió HCl acuoso (3,0 M, 13 µl). La suspensión se sometió a variaciones de temperatura en bloques de 1 h entre 40°C y 5°C durante la noche. Las suspensiones resultantes se agitaron a temperatura ambiente, se comprobó por PLM la birrefringencia y se aisló por filtración para dar la sal de HCl cristalina (forma I), que se podría usar para sembrar una preparación de escala mayor.

El experimento se repitió usando 50 mg de (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-neopentilpiperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona y sembrando con los cristales de la forma I anteriores. Sin embargo, el experimento produjo una nueva forma cristalina de la sal de HCl, designada forma II. La forma II de la sal de HCl parecía ser una forma más estable, debido a la conversión de forma de las semillas de la forma I a la forma II, y el pico endotérmico mayor observado por DSC.

La (R)-5-((4,6-Dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-neopentilpiperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona (462 mg; 0,928 mmol) se combinó con acetona (9,0 ml; 20 vol) a 40°C con agitación. Se añadió HCl acuoso (3,0 M; 309 µl) a la disolución, seguido de cristales semilla (forma II). La mezcla mostró precipitación en unos minutos. La suspensión se calentó a 40°C durante 1 h, después se enfrió lentamente a 5°C con una velocidad de enfriamiento de 0,1 °C/min. Después se repitió 3 veces el ciclo de calentamiento-enfriamiento a lo largo de un periodo de 24 h. La suspensión se equilibra a t.a. durante 1 h. Los sólidos se filtraron y la torta de filtración húmeda se analizó por XRPD. Los sólidos que quedaban se secaron a 40°C con vacío con un purgado de nitrógeno durante 4 horas. El rendimiento era de 89,3% (443 mg; 0,829 mmol) de la sal de HCl cristalina.

La sal de HCl cristalina se analizó por XRPD y estaba de acuerdo con la forma II en la torta de filtración antes y después de secado. Los datos térmicos mostraron una pérdida de peso de 0,8% hasta 200°C, y un pico endotérmico grande a 294°C asociado con descomposición. La imagen por PLM mostró partículas pequeñas de forma irregular. El material era una sal estequiométrica 1:1, determinado por análisis por cromatografía iónica.

Los datos de DVS mostraron una absorción de humedad total de 0,5% durante el primer ciclo de 40-75% de HR. El segundo ciclo de 5-80% de HR, mostró una sorción casi lineal de 1,0% seguido de una disminución de 0,4% entre 80-90% de HR. Los datos de XRPD de la sal de HCl después del experimento de DVS no indicaban un cambio de forma o en la cristalinidad.

El patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) de este material (forma II) se muestra en la figura 1 y se da un resumen de los ángulos de difracción y distancias d en la siguiente tabla I. El análisis de XRPD se llevó a cabo en un difractómetro PANalytical X'Pert Pro en pastillas de Si de fondo cero usando el detector X'celeratorTM RTMS (Real Time Multi-Strip). Las condiciones de adquisición incluían: radiación K_α del Cu, tensión del generador: 45 kV, corriente del generador: 40 mA, tamaño de paso: 0,02° 2θ. Configuración en el lado del haz de incidencia: rendija de divergencia fija (0,25°), rendijas Soller de 0,04 rad, rendija antidispersión (0,25°), y máscara del haz de 10 mm. Configuración del lado del haz difractado: rendija de divergencia fija (0,25°) y rendija Soller de 0,04 rad.

TABLA I

Ángulo de difracción [°2θ]	distancia d [Å]
4,5079	19,6026
7,6605	11,5408
8,9461	9,8850
9,5064	9,3037
10,7274	8,2473
12,7387	6,9493
13,4333	6,5915
14,2730	6,2055
14,7733	5,9965
14,9151	5,9398
15,3236	5,7824
15,7135	5,6398
16,2921	5,4407
16,8882	5,2500
17,4396	5,0853
18,2570	4,8594
18,5517	4,7829

19,0696	4,6541
21,8905	4,0603
22,4380	3,9625
23,1074	3,8492
24,0160	3,7056
24,3592	3,6541
24,9714	3,5659
25,5654	3,4844
26,8997	3,3145
27,7205	3,2182
28,7881	3,1013
29,3745	3,0407
30,3557	2,9446
31,1714	2,8694
33,4428	2,6795
35,2618	2,5453
37,5253	2,3968
38,8381	2,3188

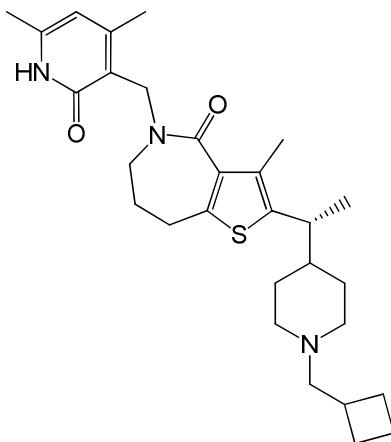
El espectro de Raman de este material (Forma II) se registró en un espectrómetro de FT-Raman Nicolet NXR 9650, con 4 cm^{-1} de resolución con excitación de un láser de Nd:YVO4 ($\lambda = 1064\text{ nm}$). El espectro de Raman de este material se muestra en la figura 2 con los picos principales observados a 455,0, 478,7, 505,2, 533,5, 541,7, 565,1, 612,1, 693,5, 757,9, 791,3, 853,9, 995,1, 1046,7, 1113,8, 1148,2, 1208,9, 1240,9, 1279,4, 1315,4, 1390,2, 1437,7, 1473,5, 1550,7, 1628,2, 1654,8, 2735,5, 2917,4 y $2953,0\text{ cm}^{-1}$.

El termograma de la calorimetría diferencial de barrido (DSC) de este material (forma II) se registró en un calorímetro diferencial de barrido Q100 TA Instruments equipado con un automuestreador y un sistema de enfriamiento refrigerado con purga de N_2 a 40 ml/min y se muestra en la figura 3. Los experimentos se llevaron a cabo usando una velocidad de calentamiento de 15°C/min en una cápsula de aluminio sellada. El termograma de DSC de este material (forma II) presentaba un solo pico endotérmico grande con una temperatura de inicio de aproximadamente 250°C , una temperatura del pico de aproximadamente 298°C y entalpía de $195,4\text{ J/g}$. Un experto en la materia reconocerá que la temperatura de inicio, temperatura del pico y entalpía del pico endotérmico pueden variar dependiendo de las condiciones experimentales.

El termograma del análisis termogravimétrico (TGA) de este material (forma II) se registró en un analizador termogravimétrico Q500 TA Instruments y se muestra en la figura 4. Estos experimentos se llevaron a cabo con un flujo de N₂ de 40 ml/min y una velocidad de calentamiento de 15°C/min. El termograma de TGA de este material (forma II) presentaba un solo suceso de pérdida de peso observado antes de la descomposición térmica final. El suceso de pérdida de peso tiene lugar en el intervalo de temperatura de 30°C a 200°C con una pérdida de peso de aproximadamente 0,8%.

Ejemplo 2

- 10 (R)-2-(1-(1-(Ciclobutilmetil)piperidin-4-il)etil)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona

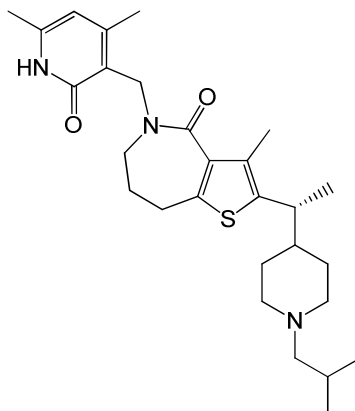


- 15 Siguiendo el procedimiento general del ejemplo 1, se preparó la (R)-2-(1-(1-(ciclobutilmetil)piperidin-4-il)etil)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona. RMN ¹H (DMSO-*d*₆) δ 11,58 (s, 1H), 5,90 (s, 1H), 4,60 (d, J=13,7 Hz, 1H), 4,50 (d, J=13,7 Hz, 1H), 3,15-3,30 (m, 2H), 2,76-2,90 (m, 2H), 2,62-2,75 (m, 3H), 2,34-2,45 (m, 1H), 2,04-2,31 (m, 11H), 1,90-2,02 (m, 2H), 1,55-1,83 (m, 8H), 1,36 (d, J=12,2 Hz, 1H), 1,05-1,31 (m, 7H). MS(ES) [M+H]⁺ 496,4.

20

Ejemplo 3

(R)-5-((4,6-Dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-(1-(1-isobutilpiperidin-4-il)etil)-3-metil-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona

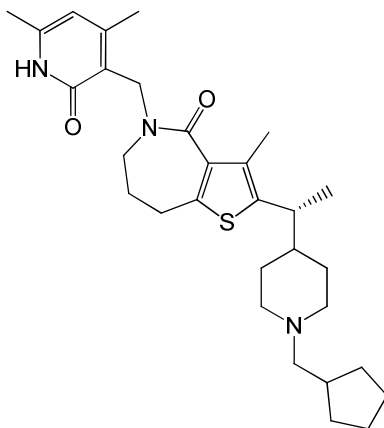


5 Siguiendo el procedimiento general del ejemplo 1, se preparó la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-(1-(1-isobutilpiperidin-4-il)etil)-3-metil-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona. RMN ^1H ($\text{DMSO}-d_6$) δ 11,58 (s, 1H), 5,91 (s, 1H), 4,60 (d, $J=13,4$ Hz, 1H), 4,50 (d, $J=13,4$ Hz, 1H), 3,16-3,29 (m, 2H), 2,79-2,93 (m, 2H), 2,74 (d, $J=11,2$ Hz, 1H), 2,66 (t, $J=7,2$ Hz, 2H), 2,09-2,20 (m, 9H), 1,95 (d, $J=7,4$ Hz, 2H), 1,59-1,83 (m, 6H), 1,38 (d, $J=11,9$ Hz, 1H), 1,07-1,29 (m, 6H), 0,81 (d, $J=6,3$ Hz, 6H). MS(ES) $[\text{M}+\text{H}]^+$ 484,4.

10

Ejemplo 4

(R)-2-(1-(1-(Ciclopentilmetil)piperidin-4-il)etil)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona

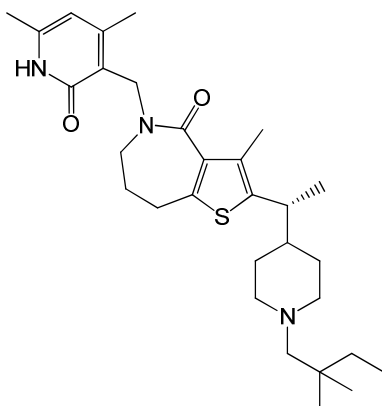


15 Siguiendo el procedimiento general del ejemplo 1, se preparó la (R)-2-(1-(1-(ciclopentilmetil)piperidin-4-il)etil)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona. RMN ^1H ($\text{DMSO}-d_6$) δ 11,51-11,64 (m, 1H), 5,91 (s, 1H), 4,56-4,68 (m, 1H), 4,45-4,54 (m, 1H), 3,24 (t, $J=5,45$ Hz, 2H), 2,74-

2,93 (m, $J=8,36$ Hz, 3H), 2,67 (t, $J=7,22$ Hz, 2H), 2,12-2,20 (m, 9H), 1,96-2,11 (m, 3H), 1,66 (d, $J=6,84$ Hz, 8H), 1,33-1,57 (m, 5H), 1,12-1,22 (m, 7H). MS(ES) $[M+H]^+$ 510,5.

Ejemplo 5

(R)-5-((4,6-Dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-(1-(1-(2,2-dimetilbutil)piperidin-4-il)etil)-3-metil-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona

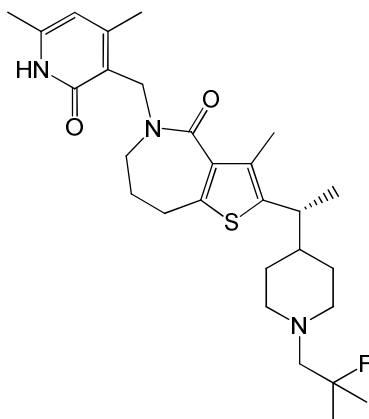


Siguiendo el procedimiento general del ejemplo 1, se preparó la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-(1-(1-(2,2-dimetilbutil)piperidin-4-il)etil)-3-metil-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona. RMN ^1H (DMSO- d_6) δ 11,58 (s. an., 1H), 5,91 (s, 1H), 4,56-4,66 (m, 1H), 4,46-4,54 (m, 1H), 3,23 (d, $J=13,18$ Hz, 1H), 2,74-2,87 (m, $J=11,41$ Hz, 2H), 2,65-2,70 (m, 3H), 2,16 (s, 3H), 2,13 (d, $J=1,52$ Hz, 7H), 1,99 (s, 3H), 1,74 (d, $J=8,87$ Hz, 1H), 1,60-1,69 (m, $J=6,84$ Hz, 2H), 1,33 (d, $J=7,86$ Hz, 1H), 1,10-1,26 (m, 9H), 0,73-0,79 (m, 9H). MS(ES) $[M+H]^+$ 512,4.

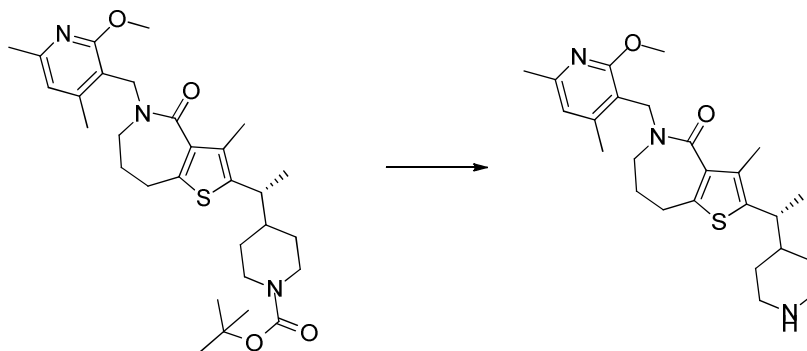
15

Ejemplo 6

(R)-5-((4,6-Dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-(1-(1-(2-fluoro-2-metilpropil)piperidin-4-il)etil)-3-metil-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona

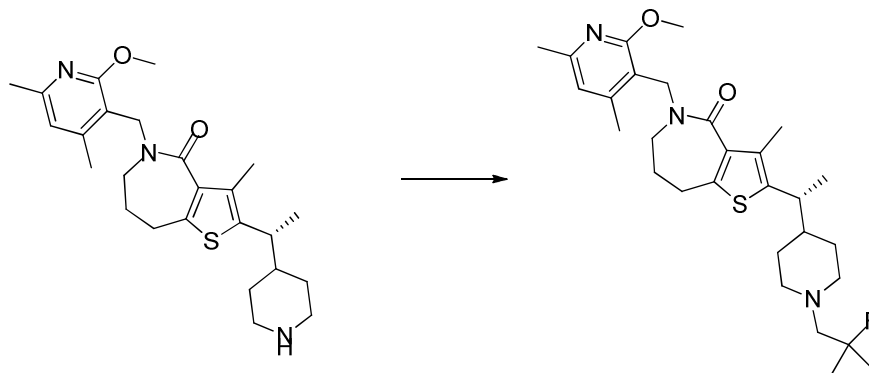


a) (R)-5-((2-Metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona



El (R)-4-(1-(5-((2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil)-3-metil-4-oxo-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-2-il)etil)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo (3,0 g, 5,54 mmol) se trató con una disolución de TFA (5,12 ml, 66,5 mmol) en DCM (17 ml). La reacción se mantuvo durante 3,5 h. El análisis de LCMS mostró que quedaba ~8% de material de partida. Se añadió lentamente gota a gota a la reacción más TFA (0,7 ml). Después de 30 min, el análisis de LCMS mostró que la reacción se había completado. La reacción se vertió lentamente en una mezcla de hielo, agua y disolución saturada de NaHCO₃ con agitación. La mezcla se diluyó con DCM y se agitó durante 15 min (pH medido 8). Se separaron las capas y la acuosa se extrajo con DCM. Los extractos orgánicos se combinaron, se secaron (MgSO₄), y se concentraron para dar la (R)-5-((2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona (2,7 g). MS(ES) [M+H]⁺ 442,2.

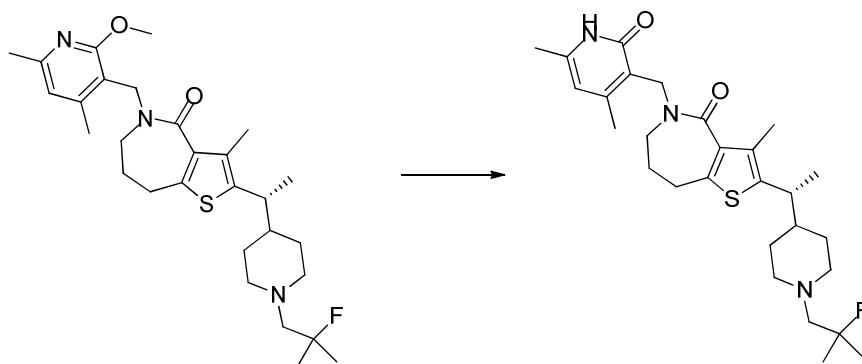
b) (R)-2-(1-(1-(2-Fluoro-2-metilpropil)piperidin-4-il)etil)-5-((2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil)-3-metil-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona



A una disolución de (R)-5-((2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona (1,6 g, 3,62 mmol) en CH₃CN (20 ml) se añadieron trifluorometanosulfonato de 2-fluoro-2-metilpropilo (1,624 g, 7,25 mmol) y Cs₂CO₃ (3,54 g, 10,87 mmol). La mezcla se calentó a 50°C durante 6 h, momento en el que se diluyó con DCM (30 ml) y se filtró. El filtrado se concentró y el residuo se purificó por cromatografía en columna (EtOAc/hexanos al 0 – 60%) para dar la (R)-2-(1-(1-(2-fluoro-2-metilpropil)piperidin-4-il)etil)-5-((2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil)-3-metil-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona (1,2 g) en forma de un sólido marrón. MS(ES) [M+H]⁺ 516,4.

10

c) (R)-5-((4,6-Dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-(1-(1-(2-fluoro-2-metilpropil)piperidin-4-il)etil)-3-metil-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona



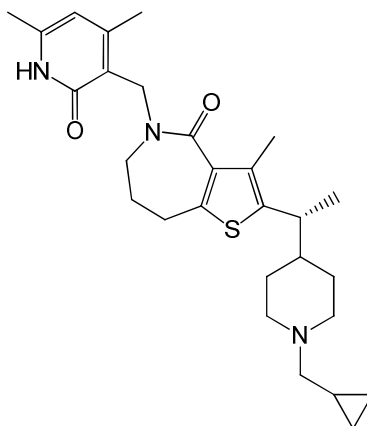
A una disolución de (R)-2-(1-(1-(2-fluoro-2-metilpropil)piperidin-4-il)etil)-5-((2-metoxi-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil)-3-metil-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona (1,20 g, 2,327 mmol) en 1,4-dioxano (12 ml) se añadió HCl 6 N (3,88 ml, 23,27 mmol). La mezcla se agitó a 70°C durante 18 h. La mezcla se concentró y el residuo se disolvió en MeOH (10 ml). Se añadió NaHCO₃ (0,586 g, 6,98 mmol) y la mezcla se agitó durante 15 min y se filtró. El filtrado se concentró y el residuo se purificó usando cromatografía en columna (EtOAc/MeOH + NH₄OH al 1% 3:1 en heptano al 10 – 80%) para dar la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-2-(1-(1-(2-fluoro-2-metilpropil)piperidin-4-il)etil)-3-metil-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona (960 mg, 81%) en forma de un sólido blanco. RMN ¹H (400 MHz, metanol-*d*₄) δ 1,23 - 1,51 (m, 12 H), 1,76 - 1,92 (m, 3 H), 1,95 - 2,13 (m, 2 H), 2,22 (s, 3 H), 2,28 (s, 3 H), 2,30 - 2,35 (m, 3 H), 2,38 - 2,43 (m, 1 H), 2,44 - 2,49 (m, 1 H), 2,78 (t, *J*=7,35 Hz, 2 H), 2,85 -

25

2,97 (m, 2 H), 3,04 (d, $J=11,41$ Hz, 1 H), 3,35 - 3,43 (m, 2 H), 4,68 - 4,85 (m, 2 H), 6,15 (s, 1 H). MS(ES) $[M+H]^+$ 502,6.

Ejemplo 7

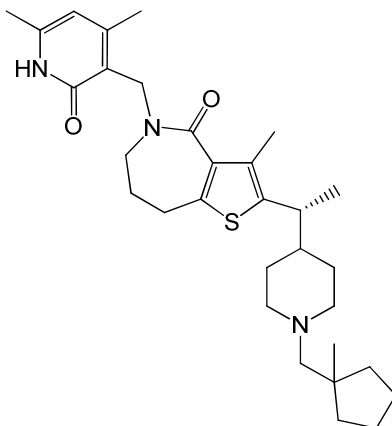
(R)-2-(1-(1-(Ciclopropilmetil)piperidin-4-il)etil)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona



Siguiendo el procedimiento general del ejemplo 1, se preparó la (R)-2-(1-(1-(ciclopropilmetil)piperidin-4-il)etil)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona. RMN ^1H (DMSO- d_6) δ 11,58 (s, 1 H) 5,91 (s, 1 H) 4,40 - 4,66 (m, 2 H) 3,24 (t, $J=6,21$ Hz, 2 H) 2,98 (d, $J=11,15$ Hz, 1 H) 2,84 - 2,92 (m, 2 H) 2,67 (t, $J=7,22$ Hz, 2 H) 2,15 (d, $J=10,65$ Hz, 9 H) 2,10 (d, $J=6,59$ Hz, 2 H) 1,61 - 1,86 (m, 5 H) 1,39 (d, $J=11,91$ Hz, 1 H) 1,10 - 1,26 (m, 6 H) 0,72 - 0,83 (m, 1 H) 0,38 - 0,45 (m, 2 H) -0,01 - 0,06 (m, 2 H). MS(ES) $[M+H]^+$ 482,4.

Ejemplo 8

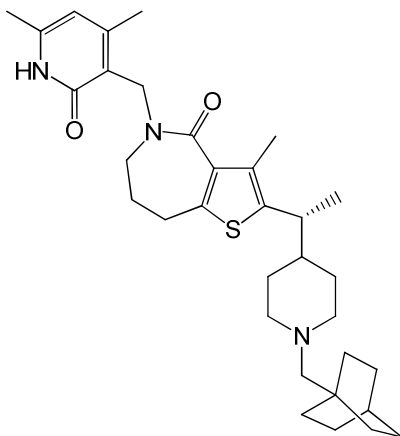
(R)-5-((4,6-Dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-((1-metilciclopentil)metil)piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona



- 5 Siguiendo el procedimiento general del ejemplo 1, se preparó la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-((1-metilciclopentil)metil)piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona. RMN ¹H (400 MHz, metanol-*d*₄) δ 0,90 (m, 3 H), 1,12 - 1,29 (m, 8 H), 1,29 - 1,45 (m, 3 H), 1,50 - 1,72 (m, 6 H), 1,76 (d, J=7,86 Hz, 1 H), 1,96 - 2,11 (m, 2 H), 2,11 - 2,24 (m, 11 H), 2,60 - 2,72 (m, 2 H), 2,77 (d, J=11,66 Hz, 1 H), 2,81 - 2,93 (m, 2 H), 3,19 - 3,29 (m, 2 H), 4,50 (d, J=13,69 Hz, 1 H), 4,61 (d, J=13,69 Hz, 1 H), 5,91 (s, 1 H), 8,17 (s, 1H).
- 10 MS(ES) [M+H]⁺ 524,4.

Ejemplo 9

(R)-2-(1-(1-(Biciclo[2.2.2]octan-1-ilmetil)piperidin-4-il)etil)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona

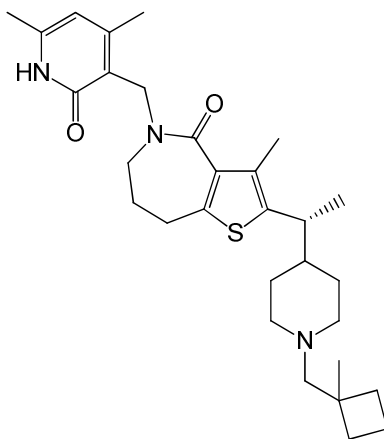


5 Siguiendo el procedimiento general del ejemplo 1, se preparó la (R)-2-(1-(1-(biciclo[2.2.2]octan-1-ilmetil)piperidin-4-il)etil)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona. RMN ¹H (400 MHz, metanol-*d*₄) δ 1,32 (d, J=6,84 Hz, 3 H), 1,49 - 1,85 (m, 20 H), 2,10 (b, 1 H), 2,23 (s, 3 H), 2,28 (s, 3 H), 2,32 (s, 3 H), 2,72- 3,19 (m, 7 H), 3,35 - 3,55 (m, 4 H), 4,73 (d, J=13,94 Hz, 1 H), 4,82 (d, J=13,94 Hz, 1 H), 6,15 (s, 1 H), 8,51 (s, 1 H). MS(ES) [M+H]⁺ 550,4.

10

Ejemplo 10

(R)-5-((4,6-Dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-(1-metilciclobutil)metil)piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona



15

A una disolución de (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona (43 g, 91 mmol) en DCE (600 ml) se añadió 1-metilciclobutano-1-carbaldehído (15,43 g, 149 mmol). La reacción se agitó durante 3 min, momento en el que se añadió AcOH (10,88 ml, 190 mmol). Después de 8 min, se añadió NaBH(OAc)₃ (57,5 g, 272 mmol) en forma de un sólido y la reacción se agitó a t.a. durante 18 h. El análisis de LCMS mostró que la reacción estaba completa en un 80%. Se añadió a la mezcla de reacción más NaBH(OAc)₃ (5 g, 24 mmol). Después de 1 h, el análisis de LCMS no mostró cambio. Se añadió a la mezcla 1-metilciclobutano-1-carbaldehído (2 g, 20 mmol). La reacción se agitó durante 2 h, momento en el que se vertió en hielo y DCM. El pH se ajustó a 10 con una combinación de disolución saturada de NaHCO₃ y disolución saturada de Na₂CO₃. La mezcla se agitó durante 15 min y se separaron las capas. La capa acuosa se extrajo con DCM y los extractos orgánicos combinados se secaron sobre MgSO₄, se filtraron a través de Celite[®] y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía en columna (columna de sílice de 330 g Isco[®]; gradiente B: 10-80%; A = heptano; B = EtOAc/EtOH + NH₄OH al 1% 3:1). Las fracciones que contenían el producto se concentraron a vacío hasta que precipitó un sólido blanco. Se añadió heptano y el sólido se filtró. El filtrado se concentró hasta que se formó un precipitado blanco. El sólido se filtró y se lavó con heptano. El filtrado se concentró una tercera vez hasta que se formó un precipitado blanco, que se filtró y se lavó con heptano. Los sólidos combinados se secaron en un horno a vacío a 40°C durante 18 h para dar la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-(1-metilciclobutil)metil)piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona (37,15 g, 71,4 mmol, 79% de rendimiento). RMN ¹H (DMSO-*d*₆) δ 1,10 (s, 4 H) 1,13 - 1,22 (m, 5 H) 1,35 (d, *J*=12,17 Hz, 1 H) 1,51 - 1,60 (m, 2 H) 1,61 - 1,88 (m, 9 H) 2,04 - 2,21 (m, 11 H) 2,58 - 2,77 (m, 4 H) 2,84 (quin, *J*=6,97 Hz, 1 H) 3,14 - 3,29 (m, 2 H) 4,51 (d, *J*=13,69 Hz, 1 H) 4,60 (d, *J*=13,69 Hz, 1 H) 5,90 (s, 1 H) 11,59 (s, 1 H). MS(ES) [M+H]⁺ 510,3.

Preparación de la sal de ácido clorhídrico cristalina del compuesto del ejemplo 10

La (R)-5-((4,6-Dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-(1-metilciclobutil)metil)piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona (20 mg) se combinó con CH₃CN (0,2 ml). La mezcla se calentó a 40°C con agitación. Se

añadió a la suspensión HCl acuoso (3,0 M, 13 µl). La suspensión se sometió a variaciones de temperatura entre 40°C y 5°C durante 3 días. La mezcla se enfrió a 4°C y se mantuvo a 4°C durante 3 días. La suspensión se dejó calentar a t.a. y se dejó que una parte del disolvente evaporara lentamente. La suspensión se equilibró a t.a. durante 1 h, se aisló por
5 filtración y se analizó por Raman para dar la sal de HCl cristalina (forma I), que se usaría para sembrar una preparación a mayor escala.

Se añadió CH₃CN (6,0 ml, 20 vol) a la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-((1-metilciclobutil)metil)piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona (303,3 mg, 0,595 mmol). Se añadió un
10 equivalente de ácido HCl acuoso (198 µl; disolución 3 M), seguido de cristales semilla (forma I). La suspensión se sometió a variaciones de temperatura de 40 a 5°C durante 3 días. La sal de HCl cristalina se aisló por filtración a vacío, se secó al aire durante 30 min y se secó en un horno con vacío a 40°C durante la noche. El rendimiento de la sal de HCl cristalina era 72% (235 mg, 0,430 mmol).

15 Los datos de DSC mostraban un pico endotérmico agudo con un inicio a 296,6°C ($\Delta H = 136,5$ J/g). Los datos de TGA mostraban una pérdida de peso insignificante por debajo de 200 °C. Se observó una pérdida de peso de 1,6% entre 200 °C y 270 °C. Se confirmó que la estequiometría de la sal de HCl era 1:1 (original:ácido HCl) por cromatografía iónica (IC). La gráfica de la isoterma de DVS mostró una absorción de
20 humedad de ~0,5% entre 5-75% de HR con una absorción total de 0,6% de agua a 5-95% de HR indicando un nivel bajo de higroscopicidad. El patrón de XRPD de la muestra después de DVS no mostró un cambio en la forma cristalina o la cristalinidad. El secado a 40°C en un horno con vacío durante la noche tampoco dio cambio en la forma del cristal.

El patrón de difracción de polvo de rayos X (XRPD) de este material (forma I) se
25 muestra en la figura 5 y se da un resumen de los ángulos de difracción y distancias d en la siguiente tabla II. El análisis de XRPD se llevó a cabo en un difractómetro PANanalytical X'Pert Pro en pastillas de Si de fondo cero usando el detector X'celeratorTM RTMS (Real Time Multi-Strip). Las condiciones de adquisición incluían: radiación K_α del Cu, tensión del generador: 45 kV, corriente del generador: 40 mA, tamaño del paso: 0,02° 2θ.
30 Configuración en el lado del haz de incidencia: rendija de divergencia fija (0,25°), rendijas Soller de 0,04 rad, rendija antidispersión (0,25°), y máscara del haz de 10 mm.

Configuración del lado del haz difractado: rendija de divergencia fija (0,25°) y rendija Soller de 0,04 rad.

TABLA II

Ángulo de difracción [°2θ]	distancia d [Å]
8,0946	10,9229
10,1871	8,6834
11,1596	7,9289
12,3730	7,1539
12,8414	6,8939
13,8164	6,4096
15,3329	5,7789
15,5403	5,7022
16,0341	5,5277
17,1860	5,1597
18,2618	4,8581
18,8118	4,7173
19,4134	4,5725
19,7590	4,4933
20,5922	4,3133
22,4437	3,9615
23,8041	3,7381
24,4061	3,6472
24,8857	3,5780
25,6231	3,4767
26,4085	3,3750
27,4345	3,2511
28,3544	3,1477
29,2340	3,0550
30,9402	2,8903
31,8774	2,8074
32,7645	2,7334
34,5383	2,5970
36,2559	2,4778
38,3009	2,3501

5

El espectro de Raman de este material (forma I) se registró en un espectrómetro de FT-Raman Nicolet NXR 9650, a una resolución de 4 cm⁻¹ con excitación de láser de Nd:YVO4 (λ = 1064 nm). El espectro de Raman de este material se muestra en la figura 6

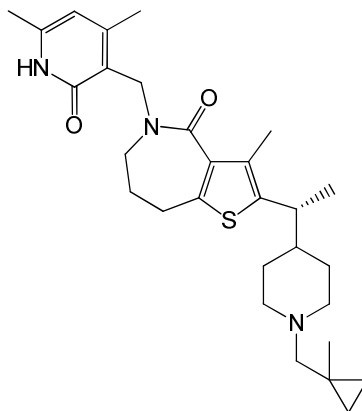
con los picos principales observados a 421,6, 435,5, 468,3, 480,1, 504,7, 511,4, 537,7, 549,9, 566,3, 611,1, 658,8, 683,1, 693,2, 728,0, 737,7, 763,9, 776,0, 793,6, 806,5, 813,7, 851,8, 886,9, 924,8, 986,3, 1000,6, 1050,4, 1115,8, 1139,6, 1169,2, 1207,2, 1226,7, 1252,1, 1276,7, 1286,1, 1312,7, 1338,0, 1372,6, 1391,4, 1427,9, 1462,4, 1482,4, 1552,7, 1595,3, 1620,0, 1646,7, 2865,0, 2921,8, 2955,3, 2973,3 y 3062,7 cm^{-1} .

El termograma de la calorimetría diferencial de barrido (DSC) de este material (forma II) se registró en un calorímetro diferencial de barrido Q100 TA Instruments equipado con un automuestreador y un sistema de enfriamiento refrigerado con purga de N_2 a 40 ml/min y se muestra en la figura 3. Los experimentos se llevaron a cabo usando una velocidad de calentamiento de $15^\circ\text{C}/\text{min}$ en una cápsula de aluminio sellada. El termograma de DSC de este material (forma II) presentaba un solo pico endotérmico grande con una temperatura de inicio de aproximadamente 265°C , una temperatura del pico de aproximadamente 300°C y entalpía de 136,5 J/g. Un experto en la materia reconocerá que la temperatura de inicio, temperatura del pico y entalpía del pico endotérmico pueden variar dependiendo de las condiciones experimentales.

El termograma del análisis termogravimétrico (TGA) de este material (forma II) se registró en un analizador termogravimétrico Q500 TA Instruments y se muestra en la figura 4. Estos experimentos se llevaron a cabo con un flujo de N_2 de 40 ml/min y una velocidad de calentamiento de $15^\circ\text{C}/\text{min}$. El termograma de TGA de este material (forma II) presentaba un solo suceso de pérdida de peso observado antes de la descomposición térmica final. El suceso de pérdida de peso tiene lugar en el intervalo de temperatura de 30°C a 260°C con una pérdida de peso de aproximadamente 1,6%.

Ejemplo 11

(R)-5-((4,6-Dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-((1-metilciclopropil)metil)piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona



- 5 Siguiendo el procedimiento general del ejemplo 1, se preparó la (R)-5-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-2-(1-(1-((1-metilciclopropil)metil)piperidin-4-il)etil)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-tieno[3,2-c]azepin-4-ona. RMN ¹H (DMSO-*d*₆) δ 0,11 - 0,33 (m, 4 H) 0,98 (s, 3 H) 1,07 - 1,28 (m, 6 H) 1,39 (d, *J*=12,17 Hz, 1 H) 1,59 - 1,82 (m, 5 H) 1,97 - 2,07 (m, 2 H) 2,08 - 2,29 (m, 9 H) 2,66 (t, *J*=7,22 Hz, 2 H) 2,81 - 2,92 (m, 2 H) 2,97 (d, *J*=10,39 Hz, 1 H) 3,14 - 3,31 (m, 2 H) 4,51 (d, *J*=13,43 Hz, 1 H) 4,60 (d, *J*=13,69 Hz, 1 H) 5,91 (s, 1 H) 11,58 (s, 1 H). MS(ES) [M+H]⁺ 496,6.
- 10

Protocolo de ensayo

- 15 Se evaluó la capacidad de los compuestos contenidos en la presente memoria, para inhibir la actividad de la metiltransferasa de EZH2 dentro del complejo PRC2. El complejo PRC2 humano se preparó por coexpresión de cada una de las 5 proteínas miembro (FLAG-EZH2, EED, SUZ12, RbAp48, AEBP2) en células Sf9 seguido de copurificación. La actividad enzimática se midió en un ensayo de centelleo por proximidad
- 20 (SPA) donde un grupo metilo tritiado es transferido de 3H-SAM a un resto de lisina en un sustrato de péptido no metilado, biotinilado, derivado de la histona H3. Los péptidos se capturaron en perlas de SPA recubiertas de estreptavidina y la señal resultante se leyó en un lector de placa ViewLux.

- 25 Parte A. Preparación del compuesto

1. Preparar disoluciones madre 10 mM de los compuestos a partir del sólido en DMSO al 100%.
2. Preparar una dilución seriada de 11 puntos (dilución 1:4, concentración superior 10 mM) en DMSO al 100% para cada compuesto de ensayo en una placa de 384 pocillos dejando las columnas 6 y 18 para los controles de DMSO.
3. Dispensar 10 nl del compuesto desde la placa de dilución a placas de reacción (Corning, poliestireno de 384 pocillos NBS, n° de cat. 3673).

Parte B. Preparación del reactivo

- 10 Preparar las siguientes disoluciones:
 1. 1x tampón base, Tris-HCl 50 mM, pH 8, MgCl₂ 2 mM: por 1 litro de tampón base, combinar Tris-HCl 1 M, pH 8 (50 ml), MgCl₂ 1 M (2 ml), y agua destilada (948 ml).
 2. 1x tampón de ensayo: Por 10 ml de 1x tampón de ensayo, combinar 1x tampón base (9,96 ml), DTT 1 M (40 ul), y Tween-20 (1 ul) al 10% para proporcionar una concentración final de Tris-HCl 50 mM, pH 8, MgCl₂ 2 mM, DTT 4 mM, Tween-20 al 0,001%.
 3. 2x Disolución enzimática: Por 10 ml de 2x disolución enzimática, combinar 1x tampón de ensayo (9,99 ml) y complejo de EZH2 miembro 5 3,24 uM (6,17 ul) para proporcionar una concentración de enzima final 1 nM.
 4. Disolución de perlas de SPA: Por 1 ml de disolución de perlas de SPA, combinar perlas de SPA recubiertas de estreptavidina (PerkinElmer, n° de cat. RPNQ0261, 40 mg) y 1x tampón de ensayo (1 ml) para proporcionar una concentración de trabajo de 40 mg/ml.
 5. 2x Disolución de sustrato: Por 10 ml de 2x disolución de sustrato, combinar disolución de perlas de SPA 40 mg/ml (375 ul), péptido histona H3K27 biotinilada 1 mM (200 ul), 3H-SAM 12,5 uM (240 ul; 1 mCi/ml), SAM frío 1 mM (57 ul), y 1x tampón de ensayo (9,13 ml) para proporcionar una concentración final de disolución de perlas de SPA 0,75 mg/ml, péptido histona H3K27 biotinilada 10 uM, 3H-SAM 0,15 uM (3H-SAM ~12 uCi/ml), y SAM frío 2,85 uM.

6. 2,67x Disolución de inactivación: Por 10 ml de 2,67x disolución de inactivación, combinar 1x tampón de ensayo (9,73 ml) y SAM frío 10 mM (267 ul) para proporcionar una concentración final de SAM frío 100 uM.

5 Parte C. Reacción de ensayo en placas de 384 pocillos Grenier Bio-one

Adición de compuestos

1. Poner 10 nl/pocillo de 1000x compuesto en los pocillos de ensayo (como se ha indicado antes).
2. Poner 10 nl/pocillo de DMSO al 100% en las columnas 6 y 18 (controles alto y bajo respectivamente).

Ensayo

1. Dispensar 5 ul/pocillo de 1x tampón de ensayo en la columna 18 (reacciones de control bajo).
2. Dispensar 5 ul/pocillo de 2x disolución de sustrato en las columnas 1 - 24 (nota: la disolución de sustrato debe mezclarse para asegurar la suspensión de perlas homogénea antes de dispensarla en el reservorio de la matriz).
3. Dispensar 5 ul/pocillo de 2x disolución enzimática en las columnas 1 - 17, 19 - 24.
4. Incubar la reacción durante 60 min a temperatura ambiente.

Inactivación

1. Dispensar 6 ul/pocillo de 2,67x disolución de inactivación en las columnas 1 - 24.
2. Sellar las placas de ensayo y centrifugar durante ~1 min a 500 rpm.
3. Adaptar las placas a la oscuridad en el instrumento ViewLux durante 15 - 60 min.

Lectura de las placas

1. Leer las placas de ensayo en el lector de placas Viewlux usando el filtro de emisión de 613 nm o el filtro transparente (300 s de exposición).

La adición del reactivo se puede hacer manualmente o con un manipulador de líquidos automático.

Resultados

Se calculó el porcentaje de inhibición con respecto al control de DMSO para cada concentración de compuesto y los valores resultantes se ajustaron usando los parámetros de ajuste de CI_{50} convencionales en el paquete de software de ajuste de datos ABASE.

Los compuestos ilustrados se ensayaron en general de acuerdo con el ensayo anterior o uno análogo y se encontró que eran inhibidores de EZH2. Las actividades biológicas específicas ensayadas de acuerdo con dichos ensayos se citan en la siguiente tabla. Los valores de $CI_{50} \leq 10$ nM indican que la actividad del compuesto se aproximaba al límite de detección en el ensayo. La repetición de los experimentos de ensayo puede usar valores de CI_{50} algo diferentes.

Ejemplo	CI_{50} EZH2 (nM)	Ejemplo	CI_{50} EZH2 (nM)
1	≤ 10	7	≤ 10
2	≤ 10	8	≤ 10
3	≤ 10	9	≤ 10
4	≤ 10	10	≤ 10
5	≤ 10	11	≤ 10
6	≤ 10		