

## COMPUESTOS 1H-PYRAZOLO [4,3-d]PIRIMIDINA COMO AGONISTAS DEL RECEPTOR 7 TIPO TOLL (TLR7) Y MÉTODOS Y USOS DE LOS MISMOS

### REFERENCIA RECÍPROCA A SOLICITUDES RELACIONADAS

- 5    **[0001]**    Esta solicitud reivindica el beneficio de acuerdo con 35 U.S.C. §119 (e) de la Solicitud Provisional de EE. UU. No. 62/714,238, presentada el 3 de agosto de 2018; cuya descripción se incorpora en el presente documento por referencia.

### ANTECEDENTES DE LA DIVULGACIÓN

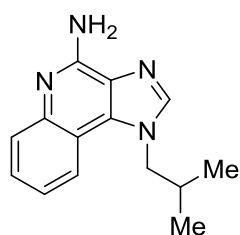
- 10    **[0002]**    Esta descripción se refiere a los agonistas del receptor 7 de tipo Toll ("TLR7") y sus conjugados, y a los métodos para la preparación y uso de tales agonistas y sus conjugados.

- 15    **[0003]**    Los receptores tipo Toll ("TLR") son receptores que reconocen patrones moleculares asociados a patógenos ("PAMPs", por sus siglas en inglés), que son pequeños motivos moleculares conservados en ciertas clases de patógenos. Los TLRs pueden ubicarse en la superficie de una célula o intracelularmente. La activación de un TLR por la unión de su PAMP  
afín señala la presencia del patógeno asociado dentro del hospedero, es decir, una infección, y estimula el sistema inmunitario del hospedero para combatir la infección. Los seres humanos tienen 10 TLRs, denominados TLR1, TLR2, TLR3, etc.

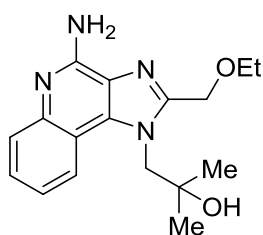
- 20    **[0004]**    La activación de un TLR -siendo el TLR7 el más estudiado- por un agonista puede tener un efecto positivo sobre la acción de las vacunas y los agentes de inmunoterapia en el tratamiento de una variedad de afecciones distintas a la infección por patógenos reales, al estimular la respuesta inmunitaria en general. Por lo tanto, existe un interés considerable en el uso de agonistas de TLR7 como adyuvantes de vacunas o como potenciadores en la inmunoterapia del cáncer. Ver, por ejemplo, Vasilakos y Tomai 2013, Sato-Kaneko 2017, Smits 2008, y Ota 2019.

- 25    **[0005]**    TLR7, un receptor intracelular ubicado en la membrana de los endosomas, reconoce los PAMPs asociados con los virus de ARN de una sola hebra. Su activación induce la secreción de interferones de Tipo I como el IFN $\alpha$  y el IFN $\beta$  (Lund 2004). TLR7 tiene dos sitios de unión, uno para ligandos de ARN de cadena simple (Berghöfer 2007) y uno para moléculas pequeñas como la guanosina (Zhang 2016).

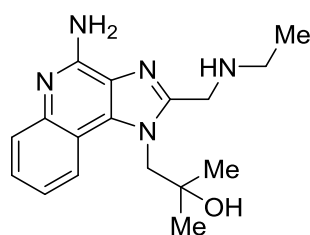
**[0006]** TLR7 puede unirse a, y ser activado por, agonistas sintéticos similares a guanosina, como imiquimod, resiquimod y gardiquimod, que se basan en un andamio de 1H-imidazo [4,5-c] quinolina. Para una revisión de los agonistas de TLR7 de moléculas pequeñas, consulte Cortez y Va 2018.



Imiquimod

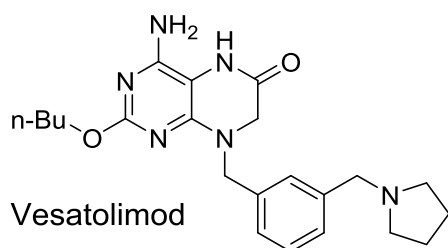


Resiquimod



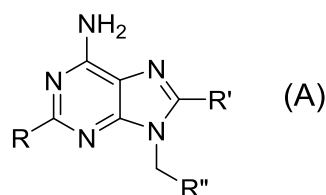
Gardiquimod

**[0007]** Agonistas de TLR7 sintéticos basados en un andamio molecular de pteridinona también se conocen, como se ejemplifica por vesatolimod (Desai 2015).



Vesatolimod

**[0008]** Se han descrito otros agonistas sintéticos de TLR7 basados en un andamio tipo purina, frecuentemente de acuerdo con la fórmula general (A):



donde R, R' y R'' son variables estructurales, con R'' que típicamente contiene un anillo aromático o heteroaromático no sustituido o sustituido.

**[0009]** Las descripciones de moléculas bioactivas que tienen un andamio similar a la purina y sus usos en el tratamiento de afecciones como fibrosis, trastornos inflamatorios, cáncer o infecciones patógenas incluyen: Akinbobuyi 2015 y 2016; Barberis 2012; Carson 2014; Ding 2016, 2017a, y 2017b; Graupe 2015; Hashimoto 2009; He 2019a y 2019b; Holldack 2012; Isobe 2009a y 2012; Poudel 2019a y 2019b; Pryde 2010; y Young 2019.

**[0010]** El grupo R” puede ser piridilo: Bonfanti 2015a y 2015b; Halcomb 2015; Hirota 2000; Isobe 2002, 2004, 2006, 2009a, 2009b, 2011, y 2012; Kasibhatla 2007; Koga-Yamakawa 2013; Musmuca 2009; Nakamura 2012; Ogita 2007; y Yu. 2013.

**[0011]** Hay descripciones de moléculas relacionadas en las que se modifica el sistema de anillo 6,5 fusionado de la fórmula (A) - un anillo de pirimidina de seis miembros fusionado con un anillo de cinco miembros de imidazol. (a) Dellaria 2007, Jones 2010 y 2012, y Pilatte 2017 describen compuestos en los que el anillo de pirimidina se reemplaza por un anillo de piridina. (b) Chen 2011, Coe 2017, y Zhang 2018 describen compuestos en los que el anillo de imidazol se reemplaza por un anillo de pirazol. (c) Cortez 2017 y 2018; Li 2018; y McGowan 2016a, 2016b y 2017 describen compuestos en los que el anillo de imidazol se reemplaza por un anillo de pirrola.

**[0012]** Bonfanti 2015b y 2016 y Purandare 2019 describen moduladores de TLR7 en los cuales los dos anillos de una fracción de purina están abarcados por un macrociclo:

**[0013]** Un agonista de TLR7 puede conjugarse con una molécula asociada, que puede ser, por ejemplo, un fosfolípido, un poli(etilenglicol) ("PEG"), un anticuerpo u otro TLR (comúnmente TLR2). Divulgaciones de ejemplo incluyen:: Carson 2013, 2015, y 2016, 2009 y 2011, Cortez 2017, Gadd 2015, Lioux 2016, Maj 2015, Vernejoul 2014, y Zurawski 2012. Un sitio de conjugación frecuente está en el grupo R” de la fórmula (A).

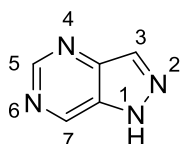
**[0014]** Jensen 2015 revela el uso de vehículos lipídicos catiónicos para el suministro de agonistas de TLR7.

**[0015]** Algunos agonistas de TLR7, incluido el resiquimod, son agonistas duales de TLR7/TLR8. Véase, por ejemplo, Beesu 2017, Embrechts 2018, Lioux 2016, y Vernejoul 2014.

**[0016]** Las citas completas de los documentos citados en este documento por el primer autor o inventor y el año se enumeran al final de esta especificación.

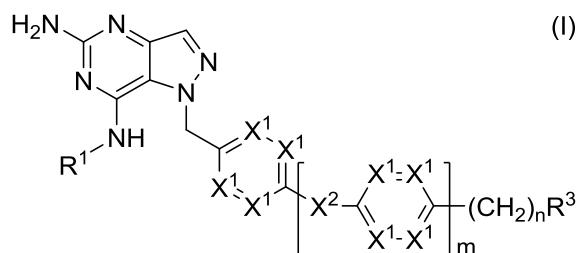
## BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

**[0017]** Esta especificación se refiere a compuestos que tienen un sistema aromático de 1H-pirazolo [4,3d] pirimidina, que tienen actividad como agonistas de TLR7.



*1H-pirazolo[4,3-d]pirimidina*

**[0018]** En un aspecto, se proporciona un compuesto con una estructura de acuerdo con la fórmula I

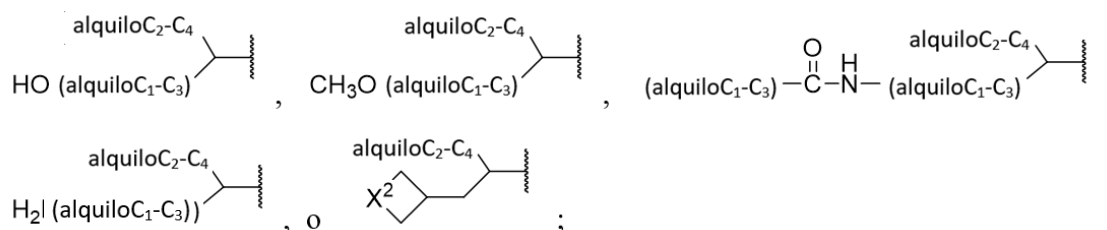


en donde

5 cada  $X^1$  es independientemente N o  $CR^2$ ;

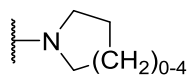
$X^2$  es O,  $CH_2$ , NH, S, o N(alquilo  $C_1$ - $C_3$ );

$R^1$  es H,  $CH_3(CH_2)_{1-3}$ ,  $CH_3(CH_2)_{0-1}O(CH_2)_{2-3}$ ,  $CH_3(CH_2)_{0-3}C(=O)$ ,  $CH_3(CH_2)_{0-1}O(CH_2)_{2-3}C(=O)$ ,



$R^2$  es H, O(alquilo $C_1$ - $C_3$ ), alquilo  $C_1$ - $C_3$ , Cl, F, o CN;

10  $R^3$  es H, halo, OH, CN,  $NH_2$ ,  $NH$ (alquilo  $C_1$ - $C_5$ ),  $N$ (alquilo  $C_1$ - $C_5$ ) $_2$ ,  $NH(CH_2)_{0-1}$ (cicloalquilo  $C_3$ - $C_6$ ),  $NH$ (bicicloalquilo  $C_4$ - $C_8$ ),  $NH$ (espirocicloalquilo  $C_6$ - $C_{10}$ ),  $N$ (cicloalquilo  $C_3$ - $C_6$ ) $_2$ ,  $NH(CH_2)_{1-3}$ (arilo),  $N((CH_2)_{1-3}(\text{arilo}))_2$ , una fracción de amina cíclica que tiene la estructura



15 una fracción aromática o heteroaromática de 6 miembros o una fracción heteroaromática de 5 miembros;

en donde

un alquilo, cicloalquilo, bicicloalquilo, spirocicloalquilo, amina cíclica, aromática o heteroaromática de 6 miembros, o una fracción heteroaromática de 5 miembros es opcionalmente sustituida por uno o más sustituyentes seleccionados de OH, halo, CN, (alquilo  $C_1$ - $C_3$ ), O(alquilo  $C_1$ - $C_3$ ),  $C(=O)(Me)$ ,  $SO_2$ (alquilo  $C_1$ - $C_3$ ),  $C(=O)(Et)$ ,  $NH_2$ ,  $NH(Me)$ ,  $N(Me)_2$ ,  $NH(Et)$ ,  $N(Et)_2$ , y  $N$ (alquilo  $C_1$ - $C_3$ ),  $(CH_2)_{1-2}OH$ ,  $(CH_2)_{1-2}OMe$ ; y

una fracción de cicloalquilo, bicicloalquilo, spirocicloalquilo, o amina cíclica puede tener un grupo  $CH_2$  sustituido por O, S, NH, N(alquilo  $C_1$ - $C_3$ ), o N(Boc);

m es 0 o 1;

y

n es 1, 2, o 3;

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

- 5 **[0019]** Los compuestos descritos en el presente documento tienen actividad como agonistas de TLR7 y algunos pueden conjugarse con un anticuerpo para el suministro dirigido a un tejido u órgano objetivo de acción prevista. También pueden PEGilados, para modular sus propiedades farmacéuticas.

- 10 **[0020]** Los compuestos descritos en el presente documento, o sus conjugados o sus derivados PEGilados, pueden usarse en el tratamiento de un sujeto que padece una afección susceptible de tratamiento por activación del sistema inmune, administrando a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de dicho compuesto o conjugado del mismo o un derivado PEGilado del mismo, especialmente en combinación con una vacuna o un agente de inmunoterapia contra el cáncer.

## 15 BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

**[0021]** Las FIGs. 1, 2A, 2B, 3A, 3B, 4A, 4B, 5, 6A, 6B, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 y 14 muestran esquemas de reacción para preparar compuestos descritos en el presente documento.

**[0022]** Las FIGs. 15 y 16 muestran esquemas para la unión de enlazadores a compuestos de esta descripción, haciéndolos adecuados para la conjugación.

## 20 DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

### DEFINICIONES

- [0023]** "Anticuerpo" significa anticuerpos completos y cualquier fragmento de unión a antígeno (es decir, "parte de unión a antígeno") o variantes de cadena única de los mismos. Un anticuerpo completo o de longitud completa es una proteína que comprende al menos dos cadenas pesadas (H) y dos cadenas ligeras (L) interconectadas por enlaces de disulfuro. Cada
- 25 cada cadena pesada comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región constante de cadena pesada que comprende tres dominios, C<sub>H1</sub>, C<sub>H2</sub> y C<sub>H3</sub>. Cada cadena ligera comprende una región variable de la cadena ligera (VL o V<sub>k</sub>) y una región constante de la cadena ligera que comprende un solo dominio, C<sub>L</sub>. Las regiones V<sub>H</sub> y V<sub>L</sub> pueden subdividirse aún más en regiones
- 30 de hipervariabilidad, denominadas regiones determinantes de complementariedad (CDRs), intercaladas con regiones marco más conservadas (FRs). Cada V<sub>H</sub> y V<sub>L</sub> comprende tres CDRs y

cuatro FRs, dispuestos desde el extremo amino al carboxi en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, y FR4. Las regiones variables contienen un dominio de enlace que interactúa con un antígeno. Las regiones constantes pueden mediar la unión del anticuerpo a los tejidos o factores del hospedero, incluidas varias células del sistema inmunitario (por ejemplo, células efectoras) y el primer componente (Clq) del sistema del complemento clásico. Se dice que un anticuerpo se "une específicamente" a un antígeno X si el anticuerpo se une al antígeno X con una  $K_D$  de  $5 \times 10^{-8}$  M o menos, más preferiblemente  $1 \times 10^{-8}$  M o menos, más preferiblemente  $6 \times 10^{-9}$  M o menos, más preferiblemente  $3 \times 10^{-9}$  M o menos, incluso más preferiblemente  $2 \times 10^{-9}$  M o menos. El anticuerpo puede ser quimérico, humanizado o, preferiblemente, humano. La región constante de cadena pesada puede diseñarse para afectar el tipo o la extensión de la glicosilación, para prolongar la vida media del anticuerpo, para mejorar o reducir las interacciones con las células efectoras o el sistema del complemento, o para modular alguna otra propiedad. La ingeniería se puede realizar mediante la sustitución, adición o eliminación de uno o más aminoácidos o mediante la sustitución de un dominio con un dominio de otro tipo de inmunoglobulina, o una combinación de los anteriores.

**[0024]** "Fragmento de unión a antígeno" y "porción de unión a antígeno" de un anticuerpo (o simplemente "porción de anticuerpo" o "fragmento de anticuerpo") significan uno o más fragmentos de un anticuerpo que retienen la capacidad de unirse específicamente a un antígeno. Se ha demostrado que la función de unión a antígeno de un anticuerpo puede realizarse mediante fragmentos de un anticuerpo de longitud completa, como (i) un fragmento Fab, un fragmento monovalente que consiste en los dominios  $V_L$ ,  $V_H$ ,  $C_L$  y  $C_{H1}$ ; (ii) un fragmento  $F(ab')_2$ , un fragmento bivalente que comprende dos fragmentos Fab unidos por un puente disulfuro en la región bisagra; (iii) un fragmento Fab', que es esencialmente un Fab con parte de la región bisagra (ver, por ejemplo, Abbas, *Cellular and Molecular Immunology*, sexta Ed., Saunders Elsevier 2007); (iv) un fragmento Fd que consiste en los dominios  $V_H$  y  $C_{H1}$ ; (v) un fragmento Fv que consiste en los dominios  $V_L$  y  $V_H$  de un solo brazo de un anticuerpo, (vi) un fragmento dAb (Ward, (1989) *Nature* 341: 544-546), que consiste en un dominio  $V_H$ ; (vii) una región determinante de complementariedad aislada (CDR); y (viii) un nanocuerpo, una región variable de cadena pesada que contiene un único dominio variable y dos dominios constantes. Los fragmentos de unión a antígeno preferidos son los fragmentos Fab,  $F(ab')_2$ , Fab', Fv y Fd. Además, aunque los dos dominios del fragmento Fv,  $V_L$  y  $V_H$ , están codificados por genes separados, se pueden unir, usando métodos recombinantes, mediante un enlazador sintético que

les permite fabricarse como una cadena de proteína única en la que las regiones  $V_L$  y  $V_H$  se parean para formar moléculas monovalentes (conocidas como Fv de cadena simple o scFv); véase, por ejemplo, Bird (1988) *Science* 242:423-426; y Huston (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883). Dichos anticuerpos de cadena única también están incluidos dentro del término "porción de unión a antígeno" de un anticuerpo.

**[0025]** A menos que se indique lo contrario, por ejemplo, con referencia a la numeración lineal en una SEC ID NO: listado, las referencias a la numeración de las posiciones de aminoácidos en una región variable de cadena pesada o ligera de anticuerpo ( $V_H$  o  $V_L$ ) se ajustan al sistema de Kabat (Kabat, "Secuencias de proteínas de interés inmunológico, 5ª ed., Pub. No. 91-3242, Departamento de Salud y Servicios Humanos de los EE. UU., NIH, Bethesda, Md., 1991, en adelante "Kabat") y referencias a la numeración de las posiciones de aminoácidos en una región constante de cadena pesada o ligera de anticuerpo ( $C_{H1}$ ,  $C_{H2}$ ,  $C_{H3}$  o  $C_L$ ) están de acuerdo con el índice de la UE según lo establecido en Kabat. Ver Lazar et al., EE.UU. 2008/0248028 A1, cuya descripción se incorpora aquí como referencia, para ejemplos de dicho uso. Además, el Sistema de información ImMunoGeneTics (IMGT) proporciona en su sitio web una tabla titulada "Cuadro científico IMGT: Correspondencia entre numeraciones C" que muestra la correspondencia entre su sistema de numeración, la numeración de la UE y la numeración de Kabat para la región constante de la cadena pesada.

**[0026]** Un "anticuerpo aislado" significa un anticuerpo que está sustancialmente libre de otros anticuerpos que tienen diferentes especificidades antigénicas (por ejemplo, un anticuerpo aislado que se une específicamente al antígeno X está sustancialmente libre de anticuerpos que se unen específicamente a otros antígenos distintos del antígeno X). Sin embargo, un anticuerpo aislado que se une específicamente al antígeno X puede tener reactividad cruzada con otros antígenos, como las moléculas del antígeno X de otras especies. En ciertas modalidades, un anticuerpo aislado se une específicamente al antígeno humano X y no reacciona de forma cruzada con otros antígenos del antígeno X (no humano). Además, un anticuerpo aislado puede estar sustancialmente libre de otro material celular y/o productos químicos.

**[0027]** "Anticuerpo monoclonal" o "composición de anticuerpo monoclonal" significa una preparación de moléculas de anticuerpo de composición molecular única, que muestra una única especificidad de unión y afinidad por un epítope particular.

**[0028]** "Anticuerpo humano" significa un anticuerpo que tiene regiones variables en las que tanto el marco como las regiones CDR (y la región constante, si está presente) se derivan de

secuencias de inmunoglobulina de la línea germinal humana. Los anticuerpos humanos pueden incluir modificaciones posteriores, incluidas modificaciones naturales o sintéticas. Los anticuerpos humanos pueden incluir residuos de aminoácidos no codificados por secuencias de inmunoglobulina de la línea germinal humana (por ejemplo, mutaciones introducidas por mutagénesis aleatoria o específica al sitio *in vitro* o por mutación somática *in vivo*). Sin embargo, el "anticuerpo humano" no incluye anticuerpos en los cuales las secuencias de CDR derivadas de la línea germinal de otra especie de mamífero, como un ratón, se hayan injertado en secuencias marco humanas.

**[0029]** "Anticuerpo monoclonal humano" significa un anticuerpo que muestra una especificidad de unión única, que tiene regiones variables en las que tanto el marco como las regiones CDR se derivan de secuencias de inmunoglobulina de la línea germinal humana. En una modalidad, los anticuerpos monoclonales humanos se producen por un hibridoma que incluye una célula B obtenida de un animal no humano transgénico, por ejemplo, un ratón transgénico, que tiene un genoma que comprende un transgén de cadena pesada humana y un transgén de cadena ligera fusionados a una célula inmortalizada.

**[0030]** "Alifático" significa una fracción de hidrocarburo no aromático de cadena lineal o ramificada, saturada o insaturada que tiene el número especificado de átomos de carbono (por ejemplo, como en "alifático C3", "C1-5 alifático", "C1-C5 alifático", o "C1 a C5 alifático" las tres últimas frases son sinónimas para una fracción alifática que tiene de 1 a 5 átomos de carbono) o, cuando el número de átomos de carbono no se especifica explícitamente, de 1 a 4 átomos de carbono (2 a 4 carbonos en el caso de fracciones alifáticas insaturadas). Una comprensión similar se aplica al número de carbonos en otros tipos, como en el alqueno C2-4, cicloalifático C4-C7, etc. En una vena similar, un término como "(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>" debe entenderse como la abreviatura para el subíndice 1, 2 o 3, de modo que dicho término representa CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, y CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>.

**[0031]** "Alquilo" significa una fracción alifática saturada, con la misma convención para designar el número de átomos de carbono que es aplicable. A modo de ilustración, las fracciones alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> incluyen, pero no se limitan a, metilo, etilo, propilo, isopropilo, isobutilo, t-butilo, 1-butilo, 2-butilo y similares. "Alquilenio" significa una contraparte divalente de un grupo alquilo, como CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, y CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>.

**[0032]** "Alquenilo" significa una fracción alifática que tiene al menos un doble enlace carbono-carbono, con la misma convención para designar el número de átomos de carbono que es aplicable. A modo de ilustración, las fracciones alqueniloC<sub>2</sub>-C<sub>4</sub> incluyen, pero no se limitan a,

etenilo (vinilo), 2-propenilo (alilo o prop-2-enilo), cis-1-propenilo, trans-1-propenilo, E- (o Z) 2-butenilo, 3-butenilo, 1,3-butadienilo (but-1,3-dienilo) y similares.

**[0033]** "Alquinilo" significa una fracción alifática que tiene al menos un triple enlace carbono-carbono, con la misma convención para designar el número de átomos de carbono que es aplicable. A modo de ilustración, los grupos alquiniloC<sub>2</sub>-C<sub>4</sub> incluyen etinilo (acetilenilo), propargilo (prop-2-inilo), 1-propinilo, but-2-inilo y similares.

**[0034]** "Cicloalifático" significa una fracción de hidrocarburo no aromática saturada o insaturada que tiene de 1 a 3 anillos, cada anillo tiene de 3 a 8 (preferiblemente de 3 a 6) átomos de carbono. "Cicloalquilo" significa una fracción cicloalifática en la que cada anillo está saturado. "Cicloalquenilo" significa una fracción cicloalifática en el que al menos un anillo tiene al menos un doble enlace carbono-carbono. "Cicloalquinilo" significa una fracción cicloalifática en el que al menos un anillo tiene al menos un triple enlace carbono-carbono. A modo de ilustración, las fracciones cicloalifáticas incluyen, pero no se limitan a, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclopentenilo, ciclohexilo, ciclohexenilo, cicloheptilo, ciclooctilo y adamantilo. Las fracciones cicloalifáticas preferidas son los cicloalquilo, especialmente ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y ciclohexilo. "Cicloalquilenilo" significa una contraparte divalente de un grupo cicloalquilo. De manera similar, "bicicloalquilenilo" y "espirocicloalquilenilo" (o "espiroalquilenilo") se refieren a contrapartes divalentes de un grupo bicicloalquilo y espirocicloalquilo/espiroalquilo.

**[0035]** "Heterocicloalifático" significa una fracción cicloalifática en donde, en al menos un anillo del mismo, se han reemplazado hasta tres carbonos (preferiblemente de 1 a 2) con un heteroátomo seleccionado independientemente de N, O o S, donde N y S pueden ser opcionalmente oxidados y el N opcionalmente puede ser cuaternizado. Las fracciones cicloalifáticas preferidas consisten en un anillo de 5 a 6 miembros de tamaño. De manera similar, "heterocicloalquilo", "heterocicloalquenilo" y "heterocicloalquinilo" significan un cicloalquilo, cicloalquenilo o cicloalquinilo, respectivamente, en donde al menos uno de sus anillos ha sido modificado de este modo. Fracciones heterocicloalifáticas de ejemplo incluyen, aziridinilo, azetidínilo, 1,3-dioxanilo, oxetanilo, tetrahidrofurilo, pirrolidinilo, piperidinilo, piperazinilo, tetrahidropiranilo, tetrahidrotiopiranilo, tetrahidrotiopiranil sulfona, morfolinilo, tiomorfolinilo, tiomorfolinil sulfóxido, tiomorfolinil sulfona, 1,3-dioxolanilo, tetrahidro-1,1-dioxotienilo, 1,4-dioxanilo, tietanilo y similares. "Heterocicloalquilenilo" significa una contraparte divalente de un grupo heterocicloalquilo.

**[0036]** "Alcoxi", "aliloxi", "alquiltio" y "aliltio" significan O(alquilo), O(arilo), S (alquilo) y S(arilo), respectivamente. Los ejemplos son metoxi, fenoxi, metiltio y feniltio, respectivamente.

**[0037]** "Halógeno" o "halo" significa flúor, cloro, bromo o yodo, a menos que se indique un significado más estrecho.

5 **[0038]** "Arilo" significa una fracción de hidrocarburo que tiene un sistema de anillo mono, bi o tricíclico (preferiblemente monocíclico) en el que cada anillo tiene de 3 a 7 átomos de carbono y al menos un anillo es aromático. Los anillos en el sistema de anillos pueden fusionarse entre sí (como en naftilo) o unirse entre sí (como en bifenilo) y pueden fusionarse o unirse a anillos no aromáticos (como en indanilo o ciclohexilfenilo). A modo de ilustración adicional, las fracciones  
10 arilo incluyen, pero no se limitan a, fenilo, naftilo, tetrahidronaftilo, indanilo, bifenilo, fenantrilo, antracenilo y acenaftilo. "Arileno" significa una contraparte divalente de un grupo arilo, por ejemplo 1,2-fenileno, 1,3-fenileno o 1,4-fenileno.

**[0039]** "Heteroarilo" significa una fracción que tiene un sistema de anillo mono, bi o tricíclico (preferiblemente monocíclico de 5 a 7 miembros) en el que cada anillo tiene de 3 a 7  
15 átomos de carbono y al menos un anillo es un anillo aromático que contiene de 1 a 4 heteroátomos seleccionados independientemente de entre N, O o S, donde el N y S opcionalmente pueden oxidarse y el N opcionalmente puede cuaternizarse. Dicho al menos un anillo aromático que contiene un heteroátomo puede fusionarse con otros tipos de anillos (como en benzofuranilo o tetrahidroisoquinolilo) o directamente unirse a otros tipos de anillos (como en  
20 fenilpiridilo o 2-ciclopentilpiridilo). A modo de ilustración adicional, las fracciones de heteroarilo incluyen pirrolilo, furanilo, tiofenilo (tienilo), imidazolilo, pirazolilo, oxazolilo, tiazolilo, isotiazolilo, triazolilo, tetrazolilo, piridilo, N-oxopiridilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo, quinolinilo, isoquinolinilo, quinazolinilo, cinolinilo, quinozalinilo, naftiridinilo, benzofuranilo, indolilo, benzotiofenilo, oxadiazolilo, tiadiazolilo, fenotiazolilo, benzimidazolilo,  
25 benzotriazolilo, dibenzofuranilo, carbazolilo, dibenzotiofenilo, acridinilo y similares. "Heteroarileno" significa una contraparte divalente de un grupo heteroarilo.

**[0040]** Cuando se indique que una fracción puede ser sustituida, como por ejemplo mediante el uso de la frase "no sustituido o sustituido" u "opcionalmente sustituido" como en "alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> no sustituido o sustituido" o "heteroarilo opcionalmente sustituido", dicha fracción puede  
30 tener uno o más sustituyentes seleccionados independientemente, preferiblemente de uno a cinco en número, más preferiblemente uno o dos en número. Los sustituyentes y los patrones de sustitución pueden ser seleccionados por un experto en la técnica, teniendo en cuenta la fracción

a la que está unido el sustituyente, para proporcionar compuestos que sean químicamente estables y que puedan sintetizarse mediante técnicas conocidas en la técnica, así como los métodos establecidos en el presente documento. Cuando una fracción se identifica como "no sustituida o sustituida" o "opcionalmente sustituida", en una modalidad preferida, dicha fracción no es sustituida.

**[0041]** "Arilalquilo", alquilo(heterocicloalifático), "arilalquenilo", "arilalquinilo", "bialilalquilo" y similares significan un grupo alquilo, alquenilo o alquinilo, según sea el caso, sustituido con un arilo, heterocicloalifático, biarilo, etc., fracción, según sea el caso, con la valencia abierta (no satisfecha) en la fracción alquilo, alquenilo o alquinilo, por ejemplo como en bencilo, fenetilo, N-imidazoiletilo, N-morfolinoetilo y similares. A la inversa, "alquilarilo", "alquenilcicloalquilo" y similares significan una fracción arilo, cicloalquilo, etc., según sea el caso, sustituido con una fracción alquilo, alquenilo, etc., según sea el caso, por ejemplo como en metilfenilo (tolilo) o alilciclohexilo. "Hidroxialquilo", "haloalquilo", "alquilarilo", "cianoarilo" y similares significan una fracción alquilo, arilo, etc., según sea el caso, sustituido con uno o más de los sustituyentes identificados (hidroxilo, halo, etc., según sea el caso).

**[0042]** Por ejemplo, los sustituyentes permisibles incluyen, pero no se limitan a, alquilo (especialmente metilo o etilo), alquenilo (especialmente alilo), alquinilo, arilo, heteroarilo, cicloalifático, heterocicloalifático, halo (especialmente fluoro), haloalquilo (especialmente trifluorometilo), hidroxilo, hidroxialquilo (especialmente hidroxietilo), ciano, nitro, alcoxi, O(hidroxialquilo), O(haloalquilo) (especialmente OCF<sub>3</sub>), O(cicloalquilo), O (heterocicloalquilo), O(arilo), alquiltio, ariltio, =O, =NH, =N(alquilo), =NOH, =NO(alquilo), -C(=O)(alquilo), -C(=O)H, -CO<sub>2</sub>H, -C(=O)NHOH, -C(=O)O(alquilo), -C(=O)O(hidroxoalquilol), -C(=O)NH<sub>2</sub>, -C(=O)NH(alquilo), -C(=O)N(alquilo)<sub>2</sub>, -OC(=O)(alquilo), -OC(=O)(hidroxialquilo), -OC(=O)O(alquilo), -OC(=O)O(hidroxialquilo), -OC(=O)NH<sub>2</sub>, -OC(=O)NH(alquilo), -OC(=O)N(alquilo)<sub>2</sub>, azido, -NH<sub>2</sub>, -NH(alquilo), -N(alquilo)<sub>2</sub>, -NH(arilo), -NH(hidroxialquilo), -NHC(=O)(alquilo), -NHC(=O)H, -NHC(=O)NH<sub>2</sub>, -NHC(=O)NH(alquilo), -NHC(=O)N(alquilo)<sub>2</sub>, -NHC(=NH)NH<sub>2</sub>, -OSO<sub>2</sub>(alquilo), -SH, -S(alquilo), -S(arilo), -S(cicloalquilo), -S(=O)alquilo, -SO<sub>2</sub>(alquilo), -SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -SO<sub>2</sub>NH(alquilo), -SO<sub>2</sub>N(alquilo)<sub>2</sub>, y similares.

**[0043]** Cuando la fracción sustituida es una fracción alifática, los sustituyentes preferidos son arilo, heteroarilo, cicloalifático, heterocicloalifático, halo, hidroxilo, ciano, nitro, alcoxi, O(hidroxialquilo), O(haloalquilo), O(cicloalquilo), O(heterocicloalquilo), O(arilo), alquiltio,

ariltio, =O, =NH, =N(alquilo), =NOH, =NO(alquilo), -CO<sub>2</sub>H, -C(=O)NHOH, -C(=O)O(alquilo),  
 -C(=O)O(hidroxialquilo), -C(=O)NH<sub>2</sub>, -C(=O)NH(alquilo), -C(=O)N(alquilo)<sub>2</sub>,  
 -OC(=O)(alquilo), -OC(=O)(hidroxialquilo), -OC(=O)O(alquilo), -OC(=O)O(hidroxialquilo),  
 -OC(=O)NH<sub>2</sub>, -OC(=O)NH(alquilo), -OC(=O)N(alquilo)<sub>2</sub>, azido, -NH<sub>2</sub>, -NH(alquilo),  
 5 -N(alquilo)<sub>2</sub>, -NH(arilo), -NH(hidroxialquilo), -NHC(=O)(alquilo), -NHC(=O)H,  
 -NHC(=O)NH<sub>2</sub>, -NHC(=O)NH(alquilo), -NHC(=O)N(alquilo)<sub>2</sub>, -NHC(=NH)NH<sub>2</sub>,  
 -OSO<sub>2</sub>(alquilo), -SH, -S(alquilo), -S(arilo), -S(=O)alquilo, -S(cicloalquilo), -SO<sub>2</sub>(alquilo),  
 -SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -SO<sub>2</sub>NH(alquilo), y -SO<sub>2</sub>N(alquilo)<sub>2</sub>. Los sustituyentes más preferidos son halo,  
 hidroxilo, ciano, nitro, alcoxi -O(arilo), =O, =NOH, =NO(alquilo), -OC(=O)(alquilo),  
 10 -OC(=O)O(alquilo), -OC(=O)NH<sub>2</sub>, -OC(=O)NH(alquilo), -OC(=O)N(alquilo)<sub>2</sub>, azido, -NH<sub>2</sub>,  
 -NH(alquilo), -N(alquilo)<sub>2</sub>, -NH(arilo), -NHC(=O)(alquilo), -NHC(=O)H, -NHC(=O)NH<sub>2</sub>,  
 -NHC(=O)NH(alquilo), -NHC(=O)N(alquilo)<sub>2</sub>, y -NHC(=NH)NH<sub>2</sub>. Especialmente preferidos  
 son fenilo, ciano, halo, hidroxilo, nitro, alcoxiC<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, O(alquilenos C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>)OH, y O(alquilenosC<sub>2</sub>-  
 C<sub>4</sub>)halo.

15 **[0044]** Cuando la fracción sustituida es una fracción cicloalifática, heterocicloalifática, arilo,  
 o heteroarilo, los sustituyentes preferidos son alquilo, alqueno, alquino, halo, haloalquilo,  
 hidroxilo, hidroxialquilo, ciano, nitro, alcoxi -O(hidroxialquilo), -O(haloalquilo), -O(arilo),  
 -O(cicloalquilo), -O(heterocicloalquilo), alquiltio, ariltio, -C(=O)(alquilo), -C(=O)H, -CO<sub>2</sub>H,  
 -C(=O)NHOH, -C(=O)O(alquilo), -C(=O)O(hidroxialquilo), -C(=O)NH<sub>2</sub>, -C(=O)NH(alquilo),  
 20 -C(=O)N(alquilo)<sub>2</sub>, -OC(=O)(alquilo), -OC(=O)(hidroxialquilo), -OC(=O)O(alquilo),  
 -OC(=O)O(hidroxialquilo), -OC(=O)NH<sub>2</sub>, -OC(=O)NH(alquilo), -OC(=O)N(alquilo)<sub>2</sub>, azido,  
 -NH<sub>2</sub>, -NH(alquilo), -N(alquilo)<sub>2</sub>, -NH(arilo), -NH(hidroxialquilo), -NHC(=O)(alquilo),  
 -NHC(=O)H, -NHC(=O)NH<sub>2</sub>, -NHC(=O)NH(alquilo), -NHC(=O)N(alquilo)<sub>2</sub>, -NHC(=NH)NH<sub>2</sub>,  
 -OSO<sub>2</sub>(alquilo), -SH, -S(alquilo), -S(arilo), -S(cicloalquilo), -S(=O)alquilo, -SO<sub>2</sub>(alquilo),  
 25 -SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -SO<sub>2</sub>NH(alquilo), y -SO<sub>2</sub>N(alquilo)<sub>2</sub>. Sustituyentes más preferidos son alquilo,  
 alqueno, halo, haloalquilo, hidroxilo, hidroxialquilo, ciano, nitro, alcoxi -O(hidroxialquilo),  
 -C(=O)(alquilo), -C(=O)H, -CO<sub>2</sub>H, -C(=O)NHOH, -C(=O)O(alquilo), -C(=O)O(hidroxialquilo),  
 -C(=O)NH<sub>2</sub>, -C(=O)NH(alquilo), -C(=O)N(alquilo)<sub>2</sub>, -OC(=O)(alquilo),  
 -OC(=O)(hidroxialquilo), -OC(=O)O(alquilo), -OC(=O)O(hidroxialquilo), -OC(=O)NH<sub>2</sub>,  
 30 -OC(=O)NH(alquilo), -OC(=O)N(alquilo)<sub>2</sub>, -NH<sub>2</sub>, -NH(alquilo), -N(alquilo)<sub>2</sub>, -NH(arilo),  
 -NHC(=O)(alquilo), -NHC(=O)H, -NHC(=O)NH<sub>2</sub>, -NHC(=O)NH(alquilo),

-NHC(=O)N(alquilo)<sub>2</sub>, y -NHC(=NH)NH<sub>2</sub>. Especialmente preferidos son alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, ciano, nitro, halo, y alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>.

**[0045]** Cuando se indica un rango, como en "alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>" o "5 a 10%," tal rango incluye los puntos finales del rango, como en C<sub>1</sub> y C<sub>5</sub> en primera instancia y 5% y 10% en segunda instancia.

**[0046]** A menos que los estereoisómeros en particular estén indicados específicamente (por ejemplo, mediante un enlace en negrita o discontinuo en un estereocentro relevante en una fórmula estructural, mediante la representación de un doble enlace que tenga una configuración E o Z en una fórmula estructural, o mediante el uso de nomenclatura o símbolos que designen estereoquímica), todos los estereoisómeros están incluidos dentro del alcance de la invención, como compuestos puros así como mezclas de los mismos. A menos que se indique lo contrario, los racematos, enantiómeros individuales (ya sea ópticamente puros o parcialmente resueltos), diastereómeros, isómeros geométricos y sus combinaciones y mezclas de los mismos están todos abarcados por esta invención.

**[0047]** Los expertos en la materia apreciarán que los compuestos pueden tener formas tautoméricas (por ejemplo, formas ceto y enol), formas de resonancia y formas zwitteriónicas que son equivalentes a las representadas en las fórmulas estructurales utilizadas en este documento y que las fórmulas estructurales abarcan dicha resonancia tautomérica., o formas zwitterionicas.

**[0048]** "Éster farmacéuticamente aceptable" significa un éster que se hidroliza *in vivo* (por ejemplo, en el cuerpo humano) para producir el compuesto precursor o una sal del mismo o tiene una actividad *per se* similar a la del compuesto precursor. Esteres adecuados incluyen alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub> o alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub>, especialmente metilo, etilo o n-propilo.

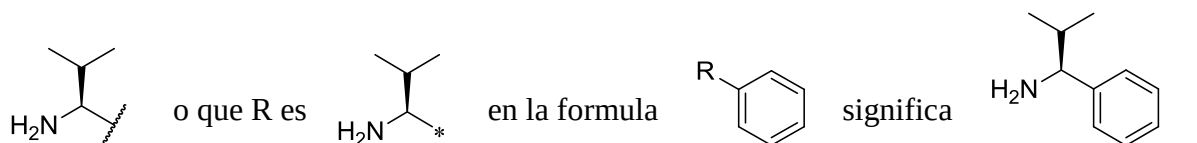
**[0049]** "Sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a una sal de un compuesto adecuado para la formulación farmacéutica. Cuando un compuesto tiene uno o más grupos básicos, la sal puede ser una sal de adición de ácido, tal como un sulfato, bromhidrato, tartrato, mesilato, maleato, citrato, fosfato, acetato, pamoato (embonato), hidroyoduro, nitrato, clorhidrato, lactato, metilsulfato, fumarato, benzoato, succinato, mesilato, lactobionato, suberato, tosilato y similares. Cuando un compuesto tiene uno o más grupos ácidos, la sal puede ser una sal tal como una sal de calcio, sal de potasio, sal de magnesio, sal de meglumina, sal de amonio, sal de zinc, sal de piperazina, sal de trometamina, sal de litio, sal de colina, sal de dietilamina, sal de 4-

fenilciclohexilamina, sal de benztatina, sal de sodio, sal de tetrametilamonio y similares. Las formas cristalinas polimórficas y los solvatos también se incluyen dentro del alcance de esta invención.

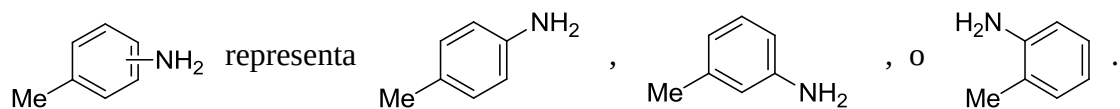
**[0050]** "Sujeto" se refiere a un animal, que incluye, pero no se limita a, un primate (*ej.*, humano), mono, vaca, cerdo, oveja, cabra, caballo, gato, conejo, rata o ratón. Los términos "sujeto" y "paciente" se usan indistintamente en este documento en referencia, por ejemplo, a un sujeto mamífero, tal como un ser humano.

**[0051]** Los términos "tratar", "tratando" y "tratamiento", en el contexto del tratamiento de una enfermedad o trastorno, incluyen aliviar o derogar un trastorno, enfermedad o afección, o uno o más de los síntomas asociados con el trastorno, enfermedad o afección; o retardar la progresión, propagación o empeoramiento de una enfermedad, trastorno o afección o de uno o más de sus síntomas. El "tratamiento del cáncer" se refiere a uno o más de los siguientes efectos: (1) inhibición, hasta cierto punto, del crecimiento tumoral, que incluye (i) desaceleración y (ii) detención completa del crecimiento; (2) reducción en el número de células tumorales; (3) mantener el tamaño tumoral; (4) reducción en el tamaño tumoral; (5) inhibición, que incluye (i) reducción, (ii) desaceleración o (iii) prevención completa, de la infiltración de células tumorales en órganos periféricos; (6) inhibición, incluida (i) reducción, (ii) desaceleración o (iii) prevención completa de metástasis; (7) mejora de la respuesta inmune antitumoral, que puede resultar en (i) mantener el tamaño tumoral, (ii) reducción del tamaño tumoral, (iii) disminución del crecimiento tumoral, (iv) reducción, desaceleración o prevención de la invasión y/o (8) alivio, en cierta medida, de la gravedad o el número de uno o más síntomas asociados con el trastorno.

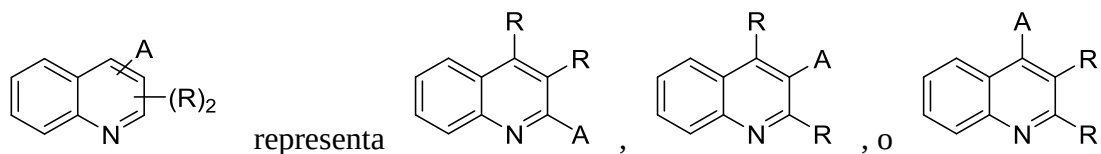
**[0052]** En las fórmulas de esta especificación, una línea ondulada. (~~~~~) transversal a un enlace o un asterisco (\*) al final del enlace denota un sitio de unión covalente. Por ejemplo, una declaración que R es



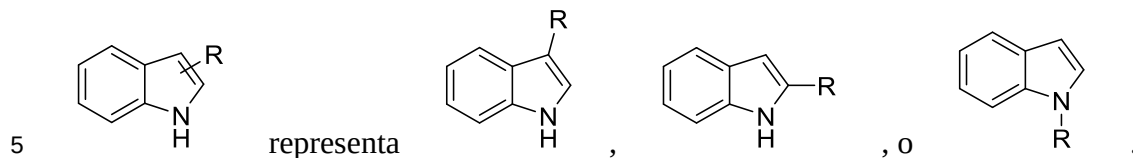
**[0053]** En las fórmulas de esta especificación, un enlace que atraviesa un anillo aromático entre sus dos carbonos significa que el grupo unido al enlace puede ubicarse en cualquiera de las posiciones del anillo aromático disponible mediante la eliminación del hidrógeno que está implícitamente allí. A modo de ilustración, la fórmula.



**[0054]** En otras ilustraciones,



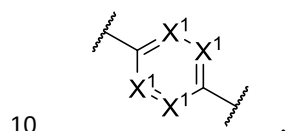
y



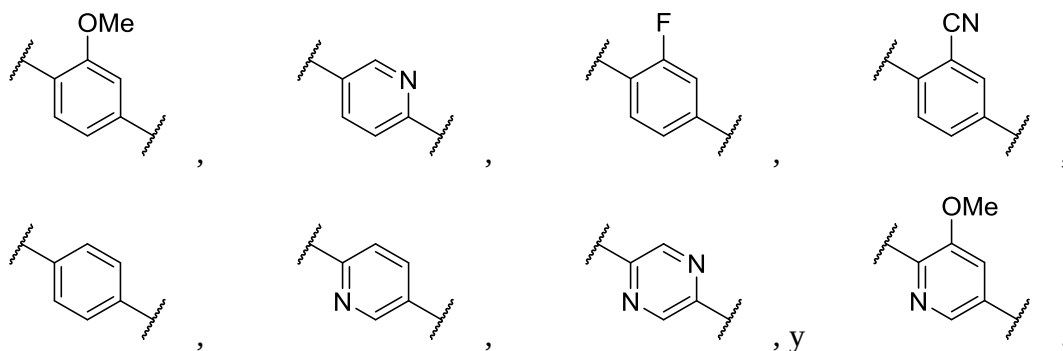
**[0055]** Los expertos en la materia apreciarán que ciertas estructuras se pueden dibujar en una forma tautomérica u otra, por ejemplo, ceto contra enol, y que las dos formas son equivalentes.

## COMPUESTOS

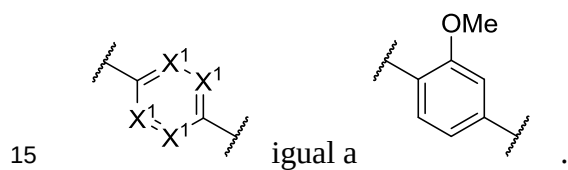
**[0056]** En una modalidad, cualquiera  $X^1$  es  $CR^2$  o no más de dos  $X^1$ 's son N en la fracción



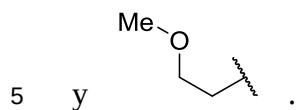
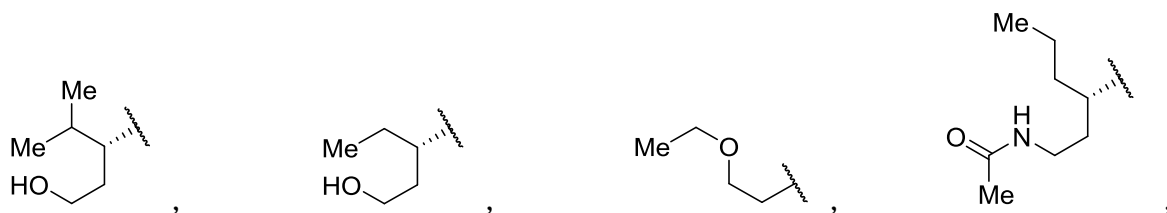
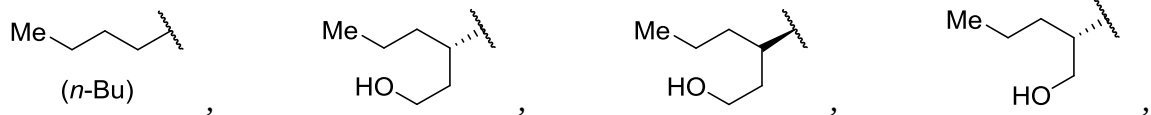
Ejemplos de estos son



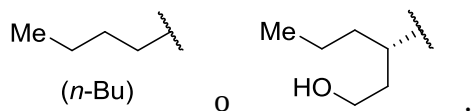
**[0057]** Un ejemplo preferido es



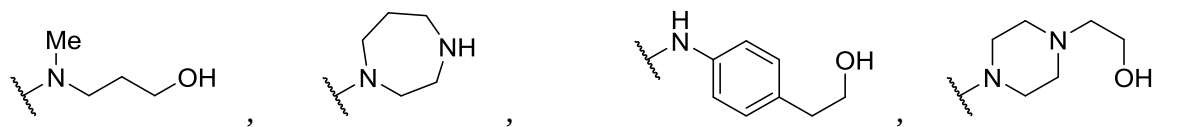
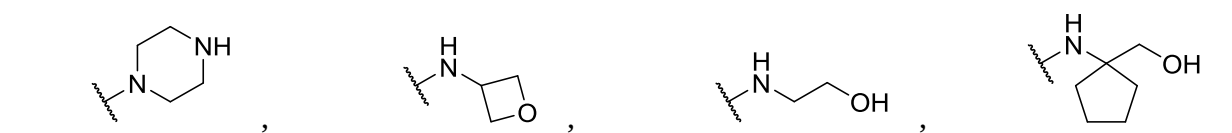
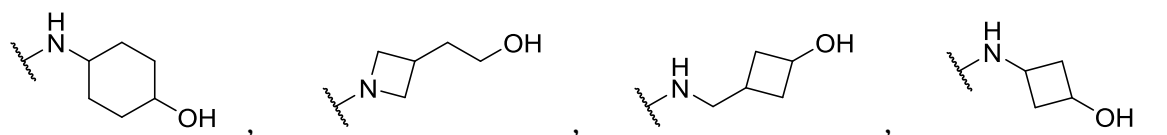
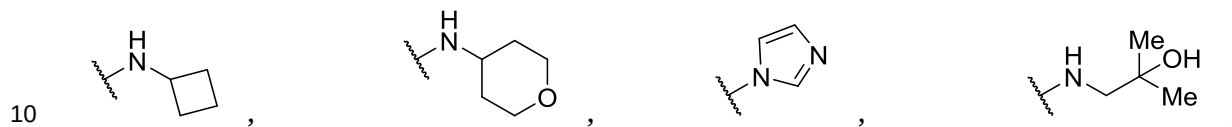
**[0058]** Grupos  $R^1$  adecuados incluyen:

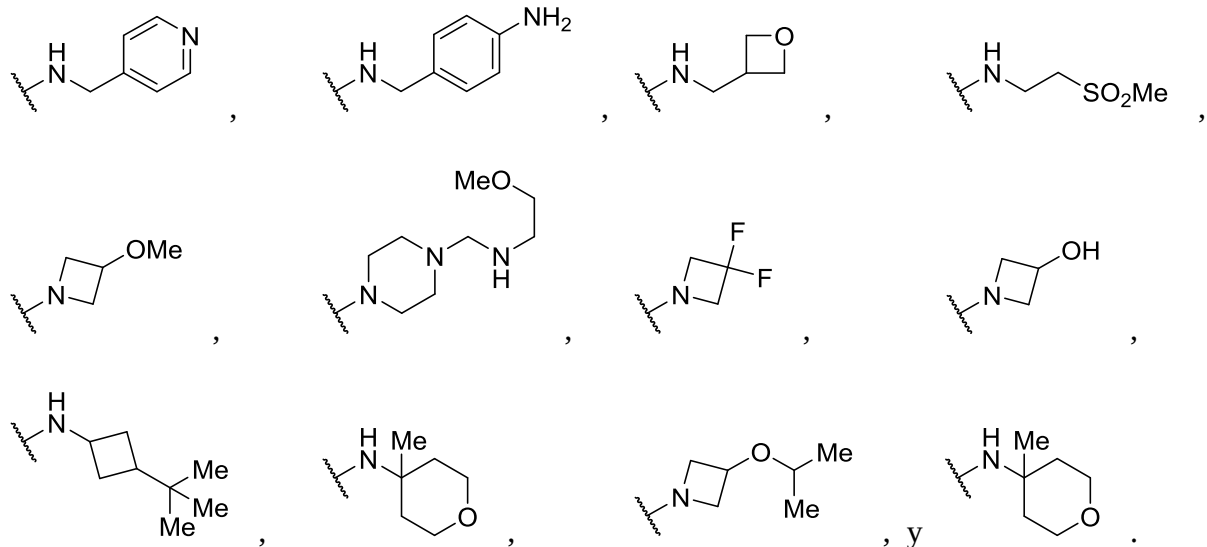


**[0059]** Preferiblemente el grupo R<sup>1</sup> es

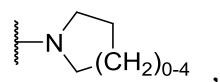


**[0060]** Ejemplos de grupos R<sup>3</sup> apropiados incluyen Cl, OH,

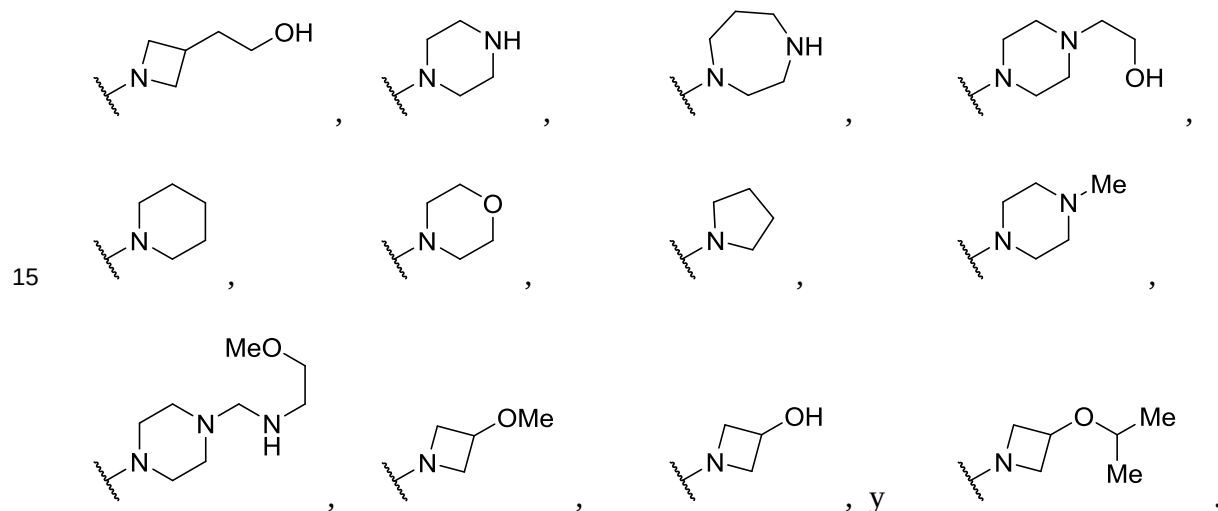




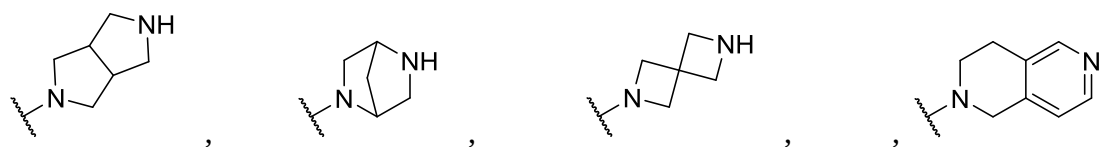
**[0061]** Ejemplos de cuando el grupo  $R^3$  tiene la estructura

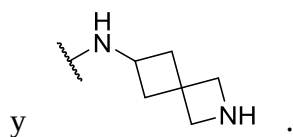


10 (incluyendo instancias con uno o más grupos metileno ( $CH_2$ ) opcionalmente reemplazados por uno o más de O, S,  $SO_2$ , NH,  $C(=O)$ , N(alquilo  $C_1-C_3$ ),  $NC(=O)$ (alquilo  $C_1-C_3$ ), o N(Boc), o tiene otro anillo fusionado al mismo, como se divulgó en la presente anteriormente) son:

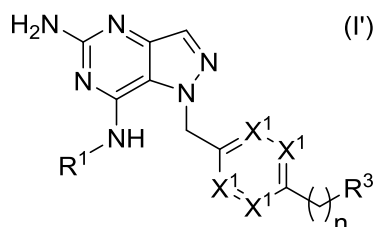


**[0062]** En otra modalidad,  $R^3$  se selecciona del grupo que consta de



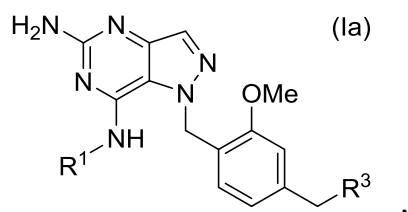


**[0063]** En una modalidad de la fórmula I, m es 0, en cuyo caso la fórmula se simplifica a la fórmula I':



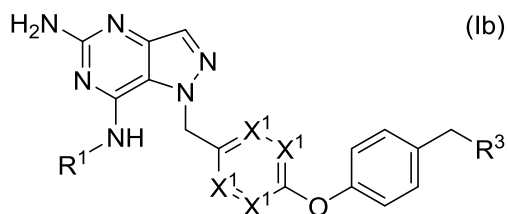
5

**[0064]** Otra modalidad de los compuestos según la fórmula I se representa por la fórmula Ia:

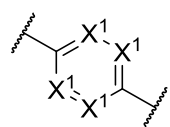


donde R<sup>1</sup> y R<sup>3</sup> son como se definen con respecto a la fórmula I anterior.

10 **[0065]** Una modalidad de compuestos de acuerdo con la fórmula I en donde m es 1 se representa por la fórmula Ib, en donde R<sup>1</sup>, R<sup>3</sup> y X<sup>1</sup> son como se definen con respecto a la fórmula I anteriormente mencionada.

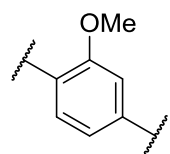


**[0066]** Preferiblemente, en la fórmula Ib

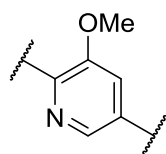


15

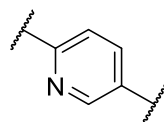
es



,

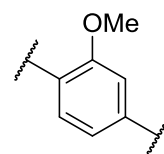


o



,

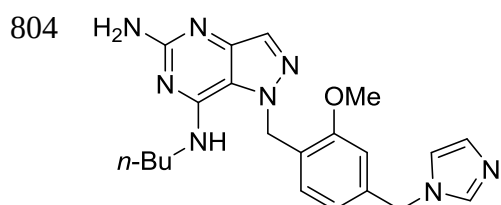
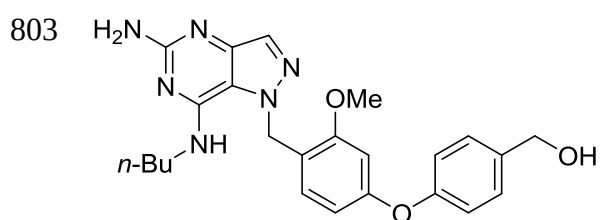
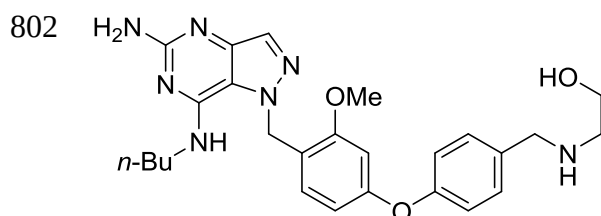
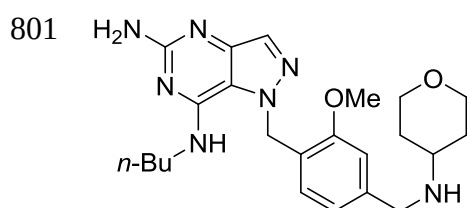
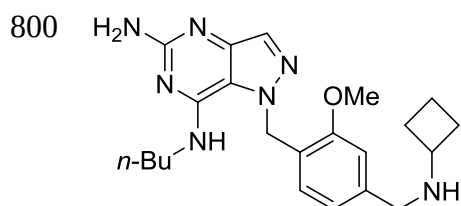
más preferiblemente



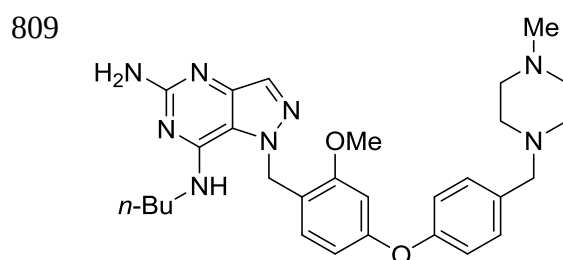
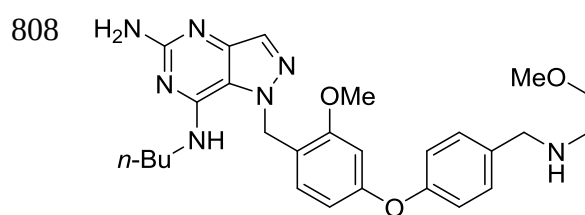
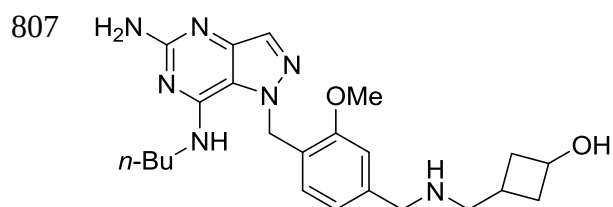
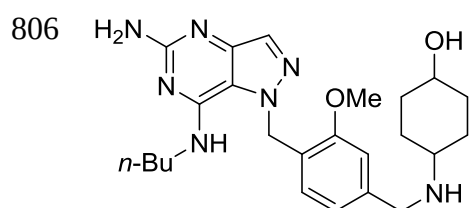
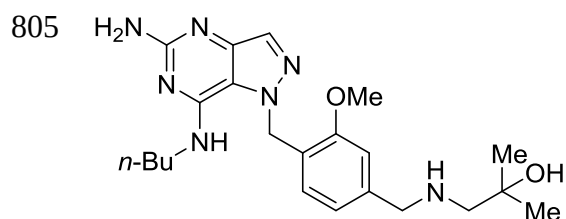
.

**[0067]** A continuación se enumeran ejemplos específicos de compuestos según esta especificación. Los métodos para su preparación y sus propiedades se proporcionan en las secciones experimentales a continuación.

No. Estructura

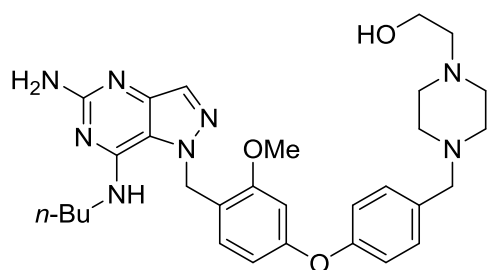


No. Estructura

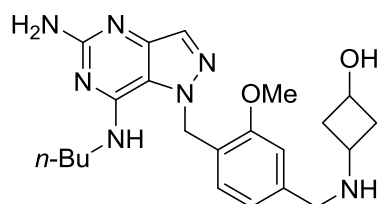


No. Estructura

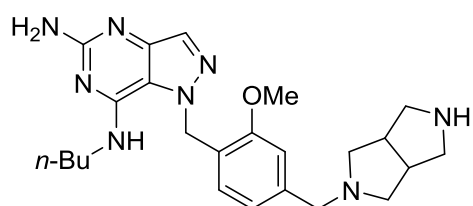
810



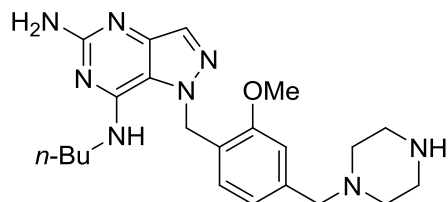
811



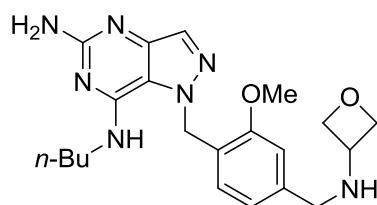
812



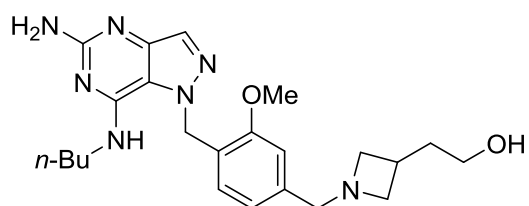
813



814

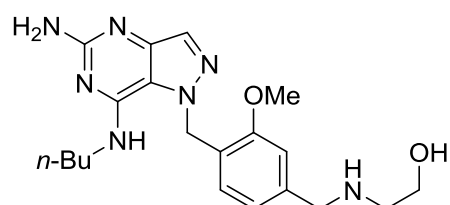


815

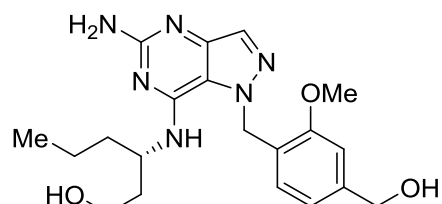


No. Estructura

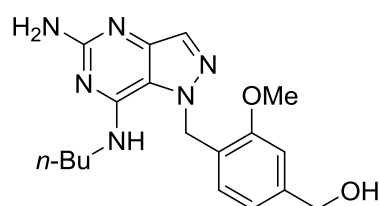
816



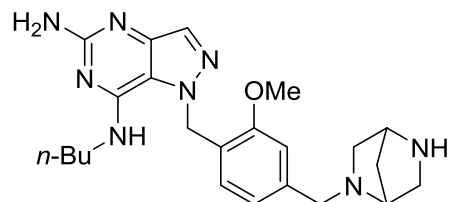
817



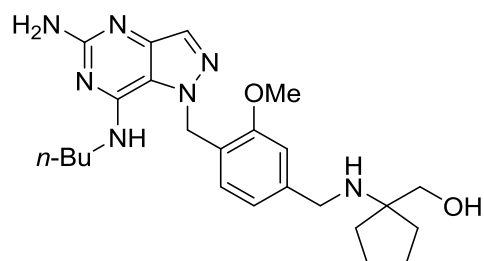
818



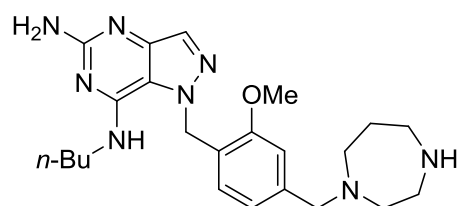
819



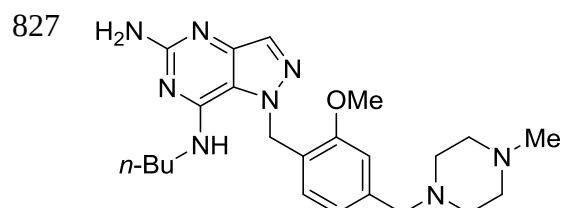
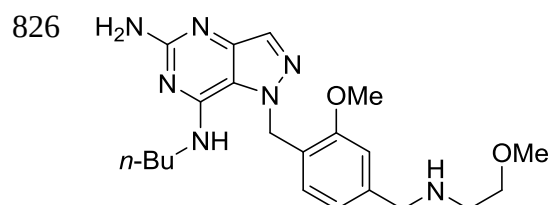
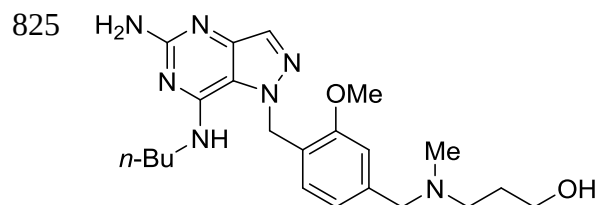
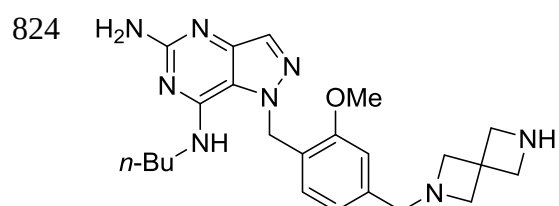
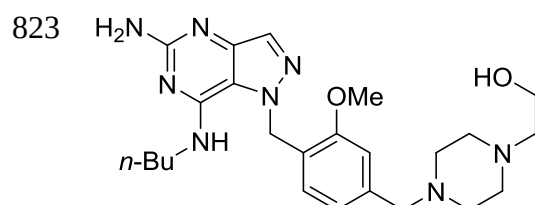
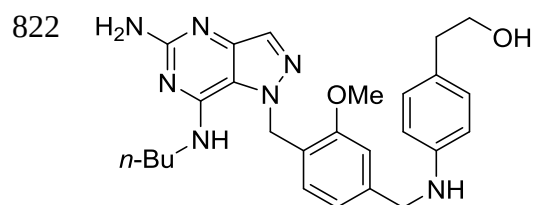
820



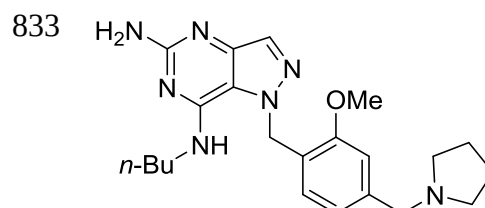
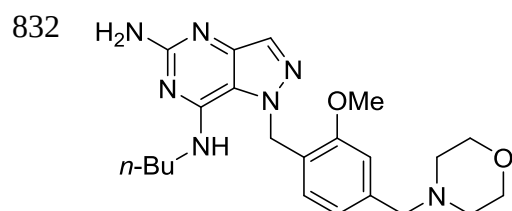
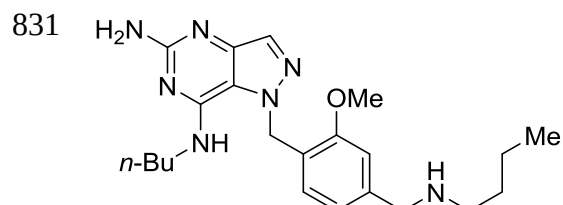
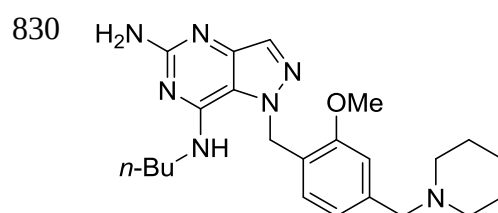
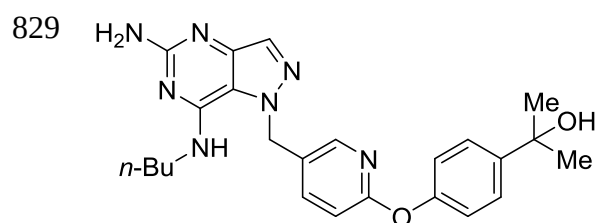
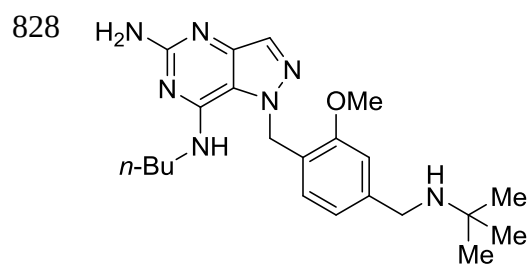
821



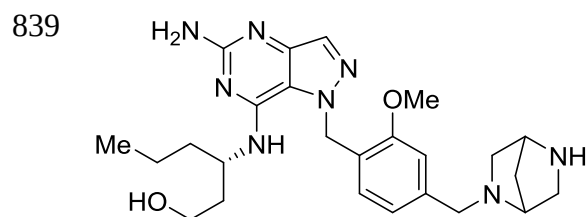
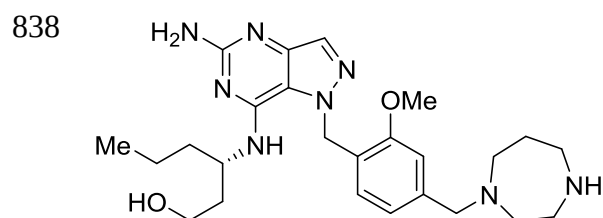
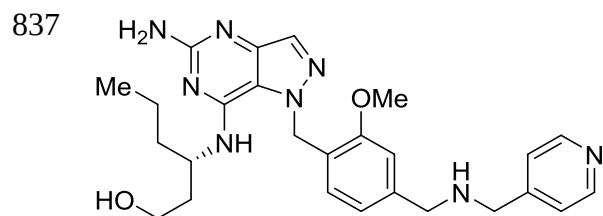
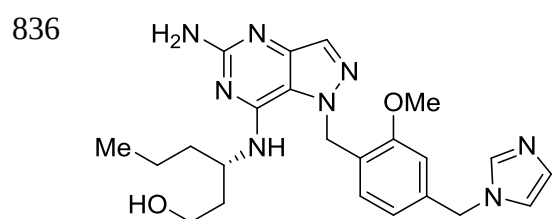
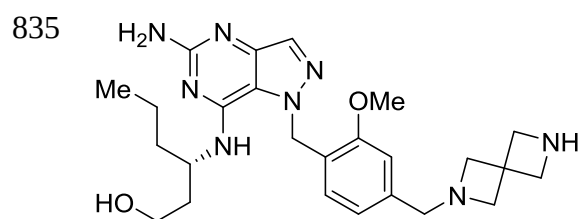
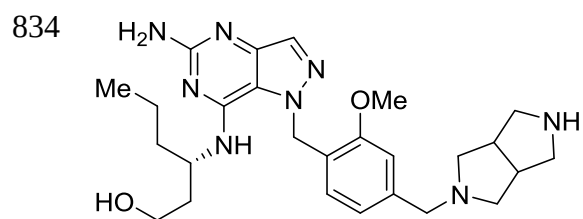
No. Estructura



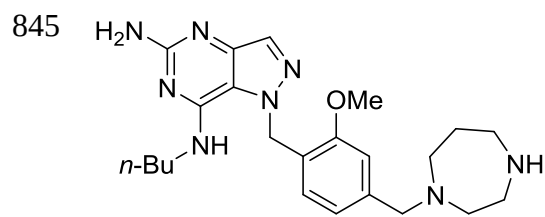
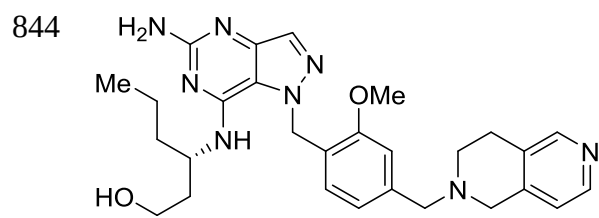
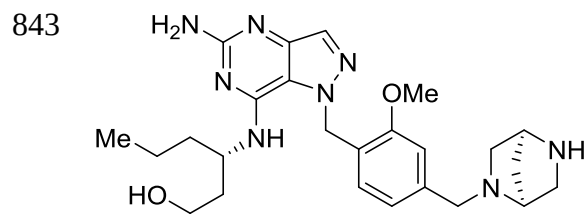
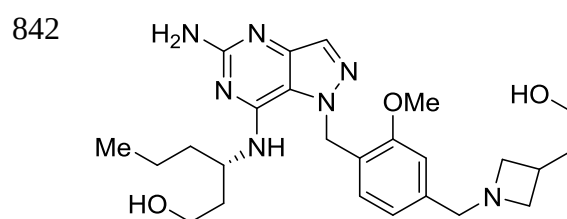
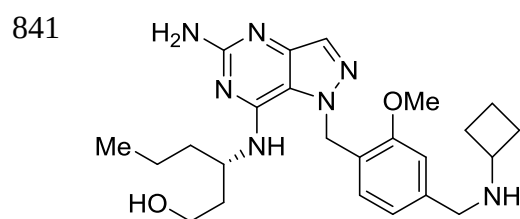
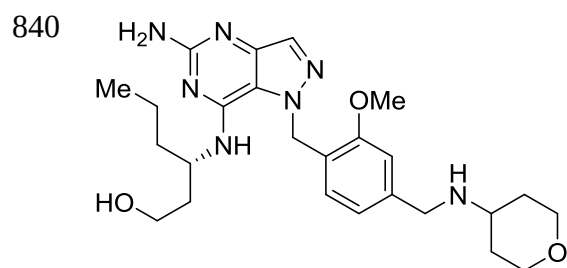
No. Estructura



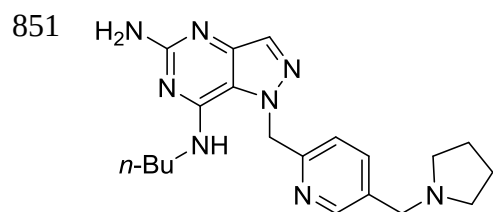
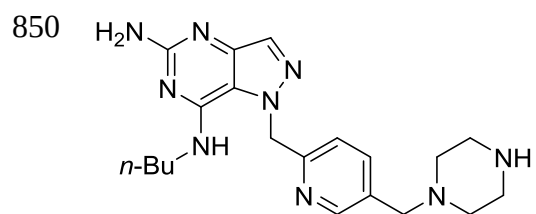
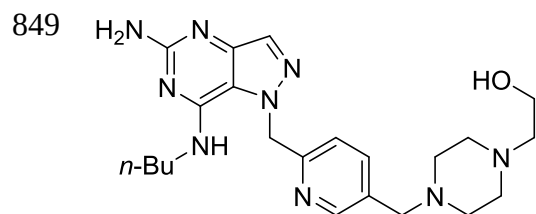
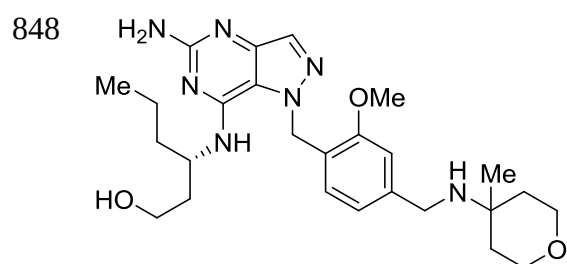
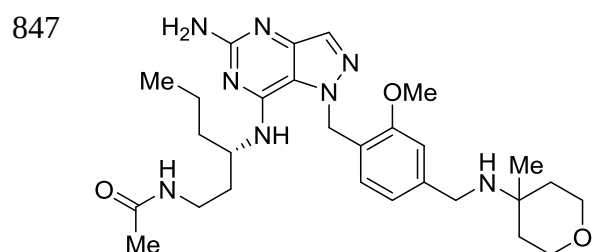
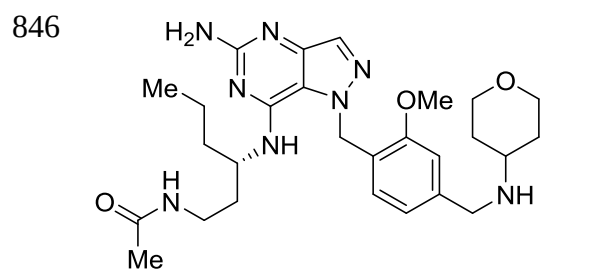
No. Estructura



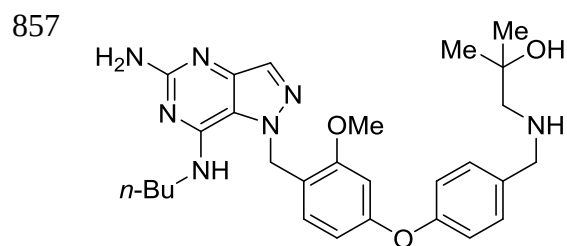
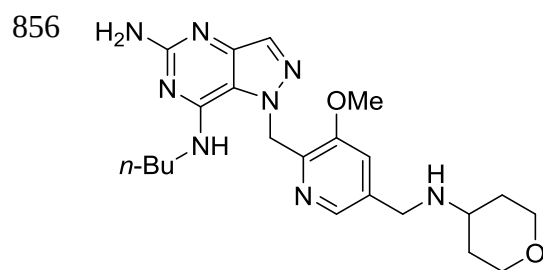
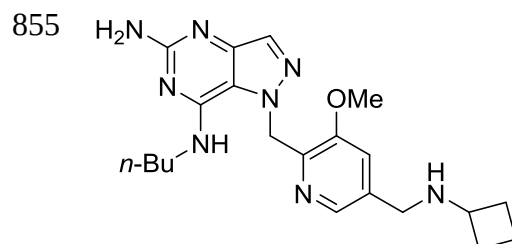
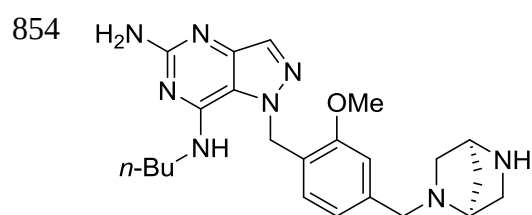
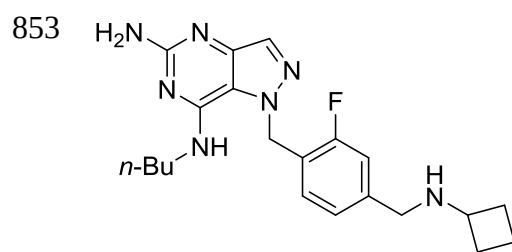
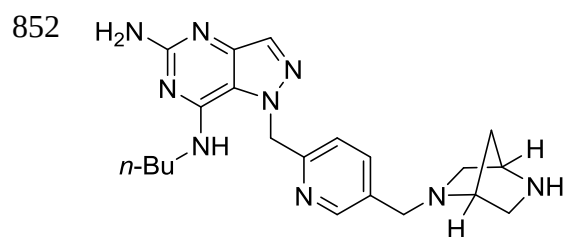
No. Estructura



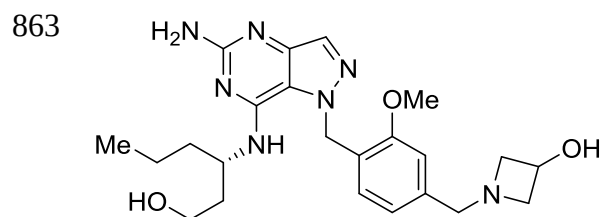
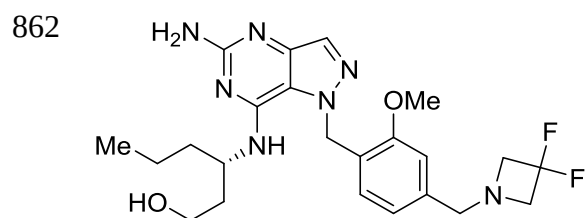
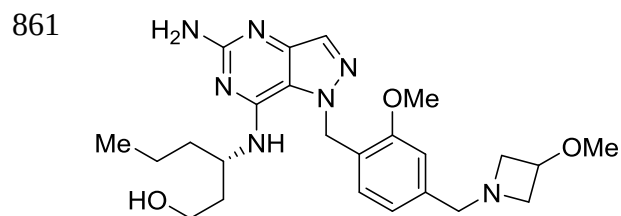
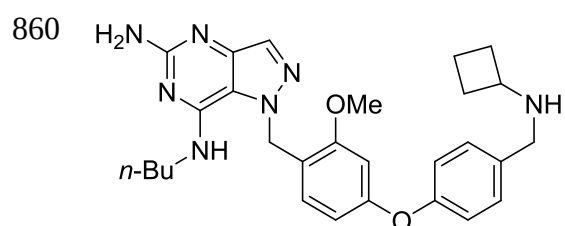
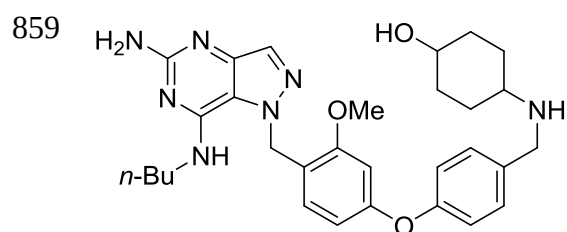
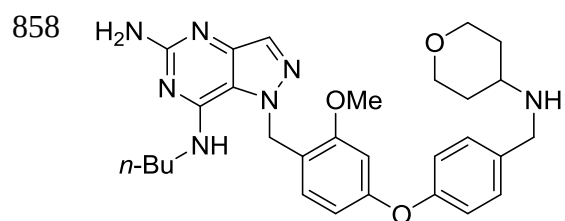
No. Estructura



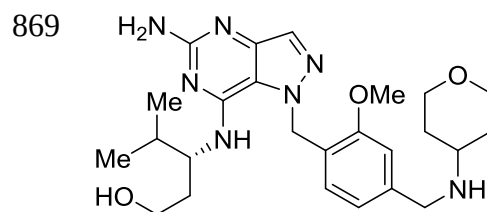
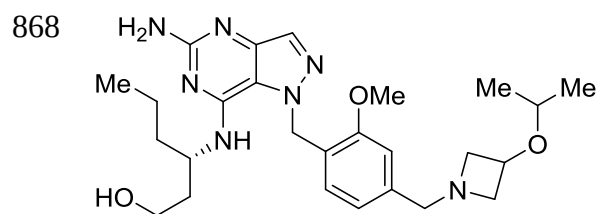
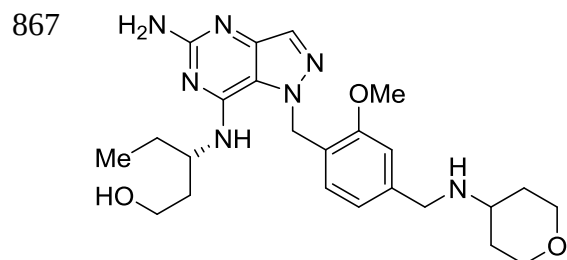
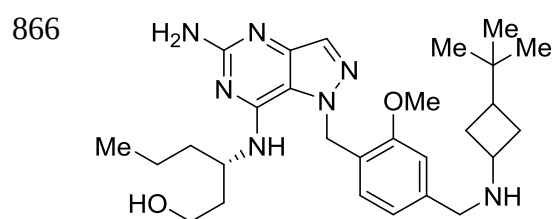
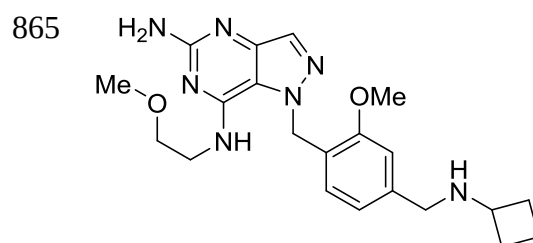
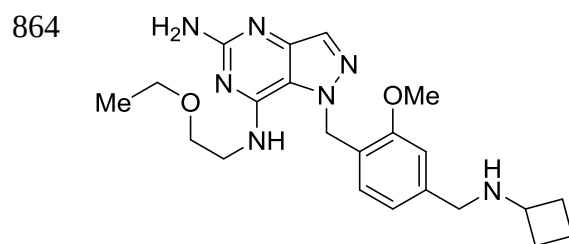
No. Estructura



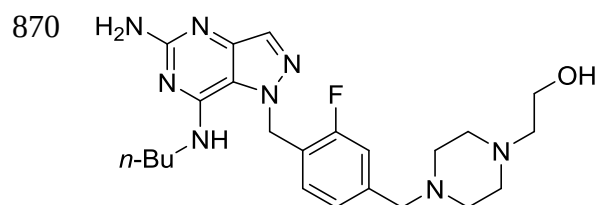
No. Estructura



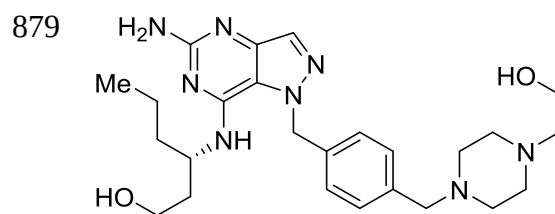
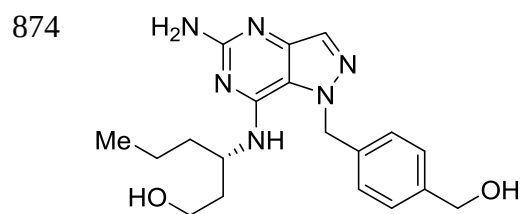
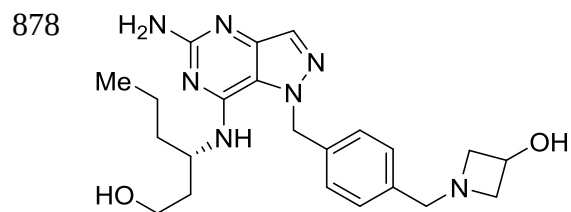
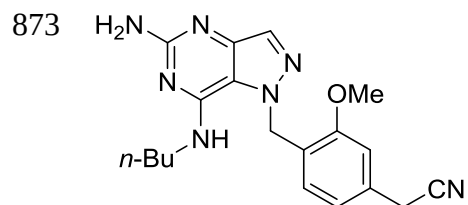
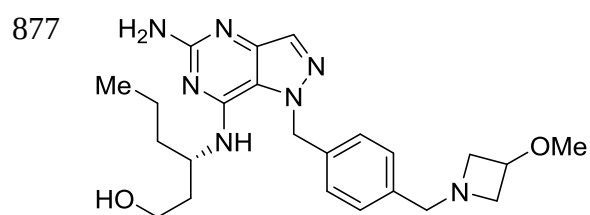
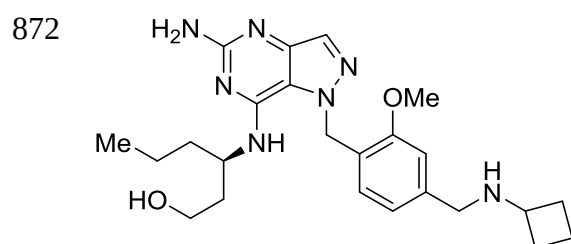
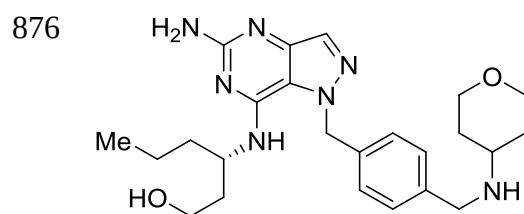
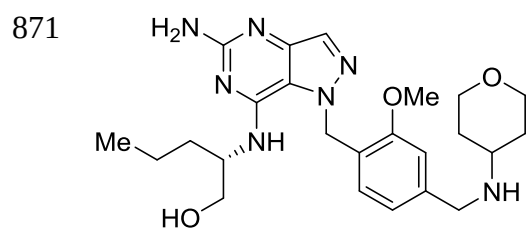
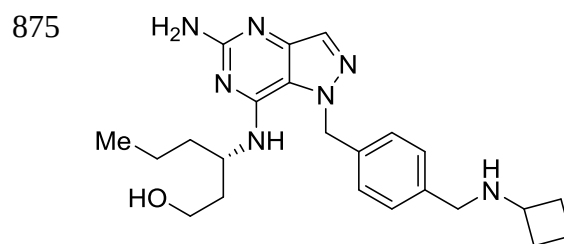
No. Estructura



No. Estructura



No. Estructura



## CONJUGADOS

### *General*

**[0068]** Los agonistas de TLR7 descritos en el presente documento pueden administrarse en el sitio de la acción prevista mediante administración localizada o mediante administración dirigida en un conjugado con una fracción dirigida. Preferiblemente, la fracción dirigida es un anticuerpo o porción de unión a antígeno del mismo y su antígeno se encuentra en la localidad de la acción prevista, por ejemplo, un antígeno asociado a un tumor si el sitio de acción deseado es un tumor (cáncer). Preferiblemente, el antígeno asociado a tumor se expresa de forma única o se sobreexpresa por la célula cancerosa, en comparación con una célula normal. El antígeno asociado al tumor puede ubicarse en la superficie de la célula cancerosa o ser secretado por la célula cancerosa en sus alrededores.

**[0069]** En un aspecto, se proporciona un conjugado que comprende un compuesto de esta invención y un ligando, representado por la fórmula (IV)



donde Z es una fracción de direccionamiento, D es un agonista de esta invención, y  $(X^D)_aC(X^Z)_b$  se denominan colectivamente una "fracción enlazadora" o "enlazador" porque enlazan Z y D. Dentro del enlazador, C es un grupo escindible diseñado para ser escindido en o cerca del sitio de la acción biológica deseada de D;  $X^D$  y  $X^Z$  son fracciones espaciadoras (o "espaciadores") que separan D y C y C y Z, respectivamente; los subíndices a, b y c son independientemente 0 o 1 (es decir, la presencia de  $X^D$ ,  $X^Z$  y C son opcionales). El subíndice m es 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, o 10 (preferiblemente 1, 2, 3, o 4). D,  $X^D$ , C,  $X^Z$  y Z se describen con más detalle a continuación.

**[0070]** Al unirse a un tejido o célula objetivo donde se localiza su antígeno o receptor, Z dirige el conjugado allí. La escisión del grupo C en el tejido o célula diana libera D para ejercer su efecto localmente. De esta manera, la entrega precisa de D se logra en el sitio de acción deseada, reduciendo la dosis necesaria. Además, D es normalmente biológicamente inactivo (o significativamente menos activo) en su estado conjugado, lo que reduce los efectos fuera no deseados.

**[0071]** Como se refleja en el subíndice m, cada Z puede conjugarse con más de una D, dependiendo del número de sitios que Z tiene disponibles para la conjugación y las condiciones experimentales empleadas. Los expertos en la materia apreciarán que, mientras que cada Z individual está conjugado con un número entero de Ds, una preparación del conjugado puede

analizar una relación no entera de D a Z, lo que refleja un promedio estadístico. Esta relación se conoce como la proporción de sustitución ("SR") o la proporción de fármaco-anticuerpo ("DAR").

#### *Fragmento Dirigido Z*

5 **[0072]** Preferiblemente, el fragmento dirigido Z es un anticuerpo. Por conveniencia y brevedad y no como limitación, la discusión detallada en esta especificación acerca de Z y sus conjugados se escribe en el contexto de que es un anticuerpo, pero los expertos en la técnica entenderán que otros tipos de Z pueden conjugarse, *mutatis mutandis* Por ejemplo, los conjugados con ácido fólico como la fracción de direccionamiento pueden dirigirse a las células  
10 que tienen el receptor de folato en sus superficies (Leamon, Cancer Res. **2008**, 68 (23), 9839). Por las mismas razones, la discusión detallada en esta especificación se escribe principalmente en términos de una relación 1:1 de Z a D ( $m = 1$ ).

**[0073]** Los anticuerpos que se pueden usar en los conjugados de esta invención incluyen aquellos que reconocen los siguientes antígenos: mesotelina, antígeno de membrana específico  
15 de la próstata (PSMA), CD19, CD22, CD30, CD70, B7H3, B7H4 (también conocido como O8E), proteína tirosina quinasa 7 (PTK7), glicpican-3, RG1, fucosil-GM1, CTLA 4 y CD44. El anticuerpo puede ser animal (por ejemplo, murino), quimérico, humanizado o, preferiblemente, humano. El anticuerpo es preferiblemente monoclonal, especialmente un anticuerpo monoclonal humano. La preparación de anticuerpos monoclonales humanos contra algunos de los antígenos  
20 mencionados anteriormente se describe en Korman, EE.UU. 8.609.816 B2 (2013; B7H4, también conocido como O8E; en particular los anticuerpos 2A7, 1G11 y 2F9); Rao-Naik, 8,097,703 B2 (2012; CD19; en particular los anticuerpos 5G7, 13F1, 46E8, 21D4, 21D4a, 47G4, 27F3 y 3C10); King, EE.UU. 8,481,683 B2 (2013; CD22; en particular los anticuerpos 12C5, 19A3, 16F7 y 23C6); Keler, EE.UU. 7,387,776 B2 (2008; CD30; en particular los anticuerpos  
25 5F11, 2H9 y 17G1); Terrett, EE.UU. 8,124,738 B2 (2012; CD70; en particular los anticuerpos 2H5, 10B4, 8B5, 18E7 y 69A7); Korman, EE.UU. 6,984,720 B1 (2006; CTLA-4; en particular anticuerpos 10D1, 4B6 y 1E2); Korman, EE.UU. 8,008,449 B2 (2011; PD-1; en particular los anticuerpos 17D8, 2D3, 4H1, 5C4, 4A11, 7D3 y 5F4); Huang, EE.UU. 2009/0297438 A1 (2009; PSMA. En particular anticuerpos 1C3, 2A10, 2F5, 2C6); Cardarelli, EE.UU. 7,875,278 B2  
30 (2011; PSMA; en particular anticuerpos 4A3, 7F12, 8C12, 8A11, 16F9, 2A10, 2C6, 2F5 y 1C3); Terrett, EE.UU. 8.222.375 B2 (2012; PTK7; en particular los anticuerpos 3G8, 4D5, 12C6, 12C6a y 7C8); Harkins, EE.UU. 7,335,748 B2 (2008; RG1; en particular anticuerpos A, B, C y

D); Terrett, EE.UU. 8.268.970 B2 (2012; mesotelina; en particular los anticuerpos 3C10, 6A4 y 7B1); Xu, US 2010/0092484 A1 (2010; CD44; en particular los anticuerpos 14G9.B8.B4, 2D1.A3.D12 y 1A9.A6.B9); Deshpande, EE.UU. 8.258.266 B2 (2012; IP10; en particular los anticuerpos 1D4, 1E1, 2G1, 3C4, 6A5, 6A8, 7C10, 8F6, 10A12, 10A12S y 13C4); Kuhne, EE.UU. 8.450.464 B2 (2013; CXCR4; en particular los anticuerpos F7, F9, D1 y E2); y Korman, EE.UU. 7,943,743 B2 (2011; PD-L1; en particular los anticuerpos 3G10, 12A4, 10A5, 5F8, 10H10, 1B12, 7H1, 11E6, 12B7 y 13G4); Las descripciones de los cuales se incorporan aquí como referencia. Preferiblemente, el anticuerpo es un anticuerpo anti-mesotelina.

**[0074]** Además de ser un anticuerpo, Z también puede ser un fragmento de anticuerpo (como Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, Fd o Fv) o un anticuerpo mimético, como un afficuerpo, un anticuerpo de dominio (dAb), un nanocuerpo, un unicuerpo, un DARPin, una anticalina, un versacuerpo, una duocalina, una lipocalina, o un avímero.

**[0075]** Cualquiera de varios grupos reactivos diferentes en Z puede ser un sitio de conjugación, que incluye grupos ε-amino en residuos de lisina, fracciones de carbohidrato colgantes, grupos de ácido carboxílico en cadenas laterales de ácido aspártico o glutámico, grupos disulfuro de cisteína-cisteína y grupos tiol de cisteína. Para revisiones sobre grupos reactivos de anticuerpos adecuados para conjugación, vea, por ejemplo, Garnett, *Adv. Drug Delivery Rev.* 2001, 53, 171-216 y Dubowchik y Walker, *Pharmacology & Therapeutics* 1999, 83, 67-123, cuyas descripciones se incorporan aquí como referencia.

**[0076]** La mayoría de los anticuerpos tienen múltiples residuos de lisina, que pueden conjugarse a través de sus grupos ε-amino a través de los enlaces de amida, urea, tiourea o carbamato.

**[0077]** Se puede usar un grupo tiol (-SH) en la cadena lateral de una cisteína para formar un conjugado por varios métodos. Puede usarse para formar un enlace disulfuro entre este y un grupo tiol en el enlazador. Otro método es a través de su adición de Michael a un grupo de maleimida en el enlazador.

**[0078]** Típicamente, aunque los anticuerpos tienen residuos de cisteína, carecen de grupos tiol libres porque todas sus cisteínas están involucradas en enlaces disulfuro intra o inter-catenarios. Para generar un grupo tiol libre, se puede reducir un grupo disulfuro nativo. Véase, ej., Packard, *Biochemistry* **1986**, 25, 3548; King, *Cancer Res.* **1994**, 54, 6176; y Doronina, *Nature Biotechnol.* **2003**, 21, 778. Alternativamente, una cisteína que tiene un grupo -SH libre

puede introducirse mutando el anticuerpo, sustituyendo una cisteína por otro aminoácido o insertando uno en la cadena polipeptídica. Veáse, por ejemplo, Eigenbrot, US 7,521,541 B2 (2009); Chilkoti, *Bioconjugate Chem.* **1994**, 5, 504; Umovitz, US 4,698,420 (1987); Stimmel, *J. Biol. Chem.* **2000**, 275, 30445; Bam, US 7,311,902 B2 (2007); Kuan, *J. Biol. Chem.* **1994**, 269, 7610; Poon, *J. Biol. Chem.* **1995**, 270, 8571; Junutula, *Nature Biotechnology* **2008**, 26, 925 y Rajpal, Solicitud Provisional EE.UU. No. 62/270245, presentada Dec. 21, 2015. En otro enfoque, se agrega una cisteína al extremo C de la cadena pesada o ligera. Veáse, ej., Liu, EE.UU 8,865,875 B2 (2014); Cumber, *J. Immunol.* **1992**, 149, 120; King, *Cancer Res.* **1994**, 54, 6176; Li, *Bioconjugate Chem.* **2002**, 13, 985; Yang, *Protein Engineering* **2003**, 16, 761; y Olafson, *Protein Engineering Design & Selection* **2004**, 17, 21. Las divulgaciones de los documentos citados en este párrafo se incorporan aquí como referencia.

#### *Enlazadores y sus Componentes*

**[0079]** Como se indicó anteriormente, el enlazador comprende hasta tres elementos: un grupo C escindible y espaciadores opcionales  $X^Z$  y  $X^D$ .

**[0080]** El grupo C es escindible en condiciones fisiológicas. Preferiblemente, es relativamente estable mientras el conjugado está en circulación en la sangre, pero se escinde fácilmente una vez que el conjugado alcanza su sitio de acción deseado.

**[0081]** Un grupo C preferido es un péptido que se escinde selectivamente por una proteasa dentro de la célula diana, a diferencia de una proteasa en el suero. Típicamente, el péptido comprende de 1 a 20 aminoácidos, preferiblemente de 1 a 6 aminoácidos, más preferiblemente de 2 a 3 aminoácidos. Los aminoácidos pueden ser  $\alpha$ -aminoácidos naturales y/o no naturales. Los aminoácidos naturales son aquellos codificados por el código genético, así como los aminoácidos derivados de ellos, por ejemplo, hidroxiprolina,  $\gamma$ -carboxiglutamato, citrulina y O-fosfoserina. En esta especificación, el término "aminoácido" también incluye análogos de aminoácidos y miméticos. Los análogos son compuestos que tienen la misma estructura general  $H_2N(R)CHCO_2H$  de un aminoácido natural, excepto que el grupo R no se encuentra entre los aminoácidos naturales. Los ejemplos de análogos incluyen homoserina, norleucina, metionina-sulfóxido y metionina metil sulfonio. Un mimético de aminoácidos es un compuesto que tiene una estructura diferente de la estructura química general de un  $\alpha$ -aminoácido pero funciona de una manera similar a uno. El aminoácido puede ser de la estereoquímica "L" de los aminoácidos codificados genéticamente, así como de la estereoquímica enantiomérica "D".

**[0082]** Preferiblemente, C contiene una secuencia de aminoácidos que es una secuencia de reconocimiento de escisión para una proteasa. Se conocen muchas secuencias de reconocimiento de escisión en la técnica. Véase, ej., Matayoshi *Science* 247: 954 (1990); Dunn *Meth. Enzymol.* 241: 254 (1994); Seidah *Meth. Enzymol.* 244: 175 (1994); Thornberry, *Meth. Enzymol.* 244: 615 (1994); Weber *Meth. Enzymol.* 244: 595 (1994); Smith *Meth. Enzymol.* 244: 412 (1994); y Bouvier *Meth. Enzymol.* 248: 614 (1995); las descripciones de los cuales se incorporan aquí como referencia.

**[0083]** Se puede elegir un grupo C de modo que sea escindido por una proteasa presente en la matriz extracelular en la vecindad de un cáncer, por ejemplo, una proteasa liberada por células cancerosas cercanas moribundas o una proteasa asociada a un tumor secretada por células cancerosas. Las proteasas asociadas a tumores extracelulares de ejemplo son plasmina, metaloproteasas de matriz (MMP), oligopeptidasa de thimet (TOP) y CD10. Véase, ej., Trouet, EE.UU. 7,402,556 B2 (2008); Dubois, EE.UU. 7,425,541 B2 (2008); y Bebbington, US 6.897.034 B2 (2005). La cathepsina D, una enzima normalmente lisosomal que se encuentra dentro de las células, a veces se encuentra en el entorno de un tumor, posiblemente liberado por células cancerosas moribundas.

**[0084]** Para conjugados diseñados para ser por una enzima, C comprende preferiblemente una secuencia de aminoácidos seleccionada para escisión por proteasas tales como cathepsinas B, C, D, H, L y S, especialmente cathepsina B. Los péptidos escindibles de cathepsina B ejemplares incluyen Val-Ala, Val Cit, Val-Lys, Lys-Val-Ala, Asp-Val-Ala, Val-Ala, Lys-Val-Cit, Ala-Val-Cit, Val Gly, Val Gln y Asp-Val-Cit. (Aquí, las secuencias de aminoácidos se escriben en la dirección N a C, como en  $H_2NAA^2AA^1CO_2H$ , a menos que el contexto indique claramente lo contrario.) Véase Dubowchik, *Biorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, 8, 3341; Dubowchik, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, 8, 3347; y Dubowchik, *Bioconjugate Chem.* **2002**, 13, 855; las revelaciones de las cuales se incorporan como referencia.

**[0085]** Otra enzima que se puede utilizar para escindir los enlaces peptídicos es la legumaina, una cisteína proteasa lisosomal que se escinde preferentemente en AlaAlaAsn.

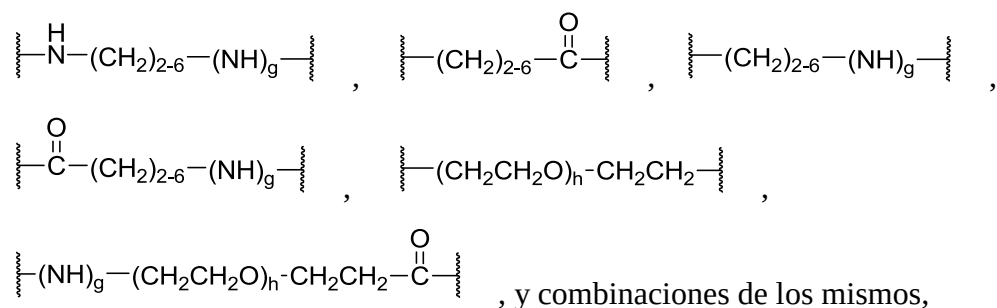
**[0086]** En una modalidad, el Grupo C es un péptido que comprende una secuencia de dos aminoácidos  $AA^2AA^1$  en donde  $AA^1$  es lisina, arginina o citrulina y  $AA^2$  es fenilalanina, valina, alanina, leucina o isoleucina. En otra modalidad, C consiste en una secuencia de uno a tres aminoácidos, seleccionados del grupo que consiste en ValCit, AlaVal, ValAlaVal, LysLys,

AlaAsnVal, ValLeuLys, CitCit, Val Lys, AlaAlaAsn, Lys, Cit, Ser y Glu. Más preferiblemente, es un péptido de dos a tres aminoácidos del grupo anterior.

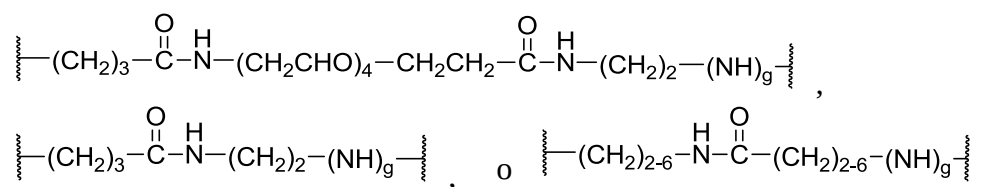
**[0087]** La preparación y diseño de los grupos C escindibles que consisten en un solo aminoácido se describe en Chen, EE.UU. 8,664,407 B2 (2014), cuya descripción se incorpora aquí como referencia.

**[0088]** El grupo C puede unirse directamente a Z o D; es decir, los espaciadores  $X^Z$  o  $X^D$ , según sea el caso, pueden estar ausentes.

**[0089]** Cuando está presente, el espaciador  $X^Z$  proporciona separación espacial entre C y Z, para que el primero no interfiera estéricamente con la unión del antígeno por este último o este último interfiera estéricamente con la escisión del primero. Además, el espaciador  $X^Z$  se puede usar para conferir solubilidad incrementada o propiedades de agregación disminuidas a los conjugados. Un espaciador  $X^Z$  puede comprender uno o más segmentos modulares, que se pueden ensamblar en cualquier número de combinaciones. Ejemplos de segmentos adecuados para un espaciador  $X^Z$  son:



donde el subíndice g es 0 o 1 y el subíndice h es 1 a 24, preferiblemente 2 a 4. Estos segmentos se pueden combinar, como se ilustra a continuación:



**[0090]** El espaciador  $X^D$ , si está presente, proporciona una separación espacial entre C y D, para que este no interfiera estéricamente o electrónicamente con la escisión del primero. El espaciador  $X^D$  también puede servir para introducir una masa molecular adicional y una funcionalidad química en un conjugado. Generalmente, la masa adicional y la funcionalidad afectarán la vida media del suero y otras propiedades del conjugado. De este modo, a través de una selección juiciosa de grupos espaciadores, se puede modular la vida media en suero de un

conjugado. El espaciador XD también se puede ensamblar a partir de segmentos modulares, de manera análoga a la descripción anterior para el espaciador X<sup>Z</sup>.

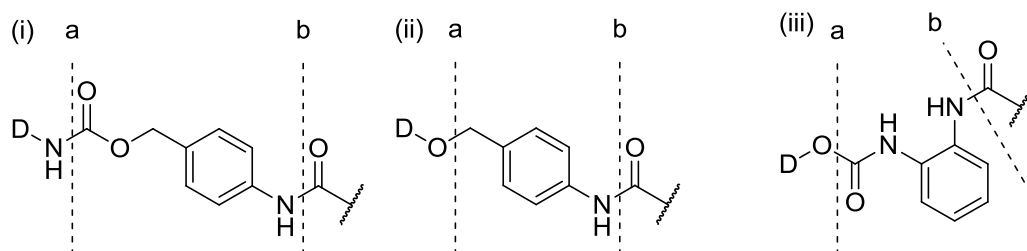
**[0091]** Los espaciadores X<sup>Z</sup> y/o X<sup>D</sup>, cuando están presentes, proporcionan preferiblemente una separación lineal de 4 a 25 átomos, más preferiblemente de 4 a 20 átomos, entre Z y C o D y C, respectivamente.

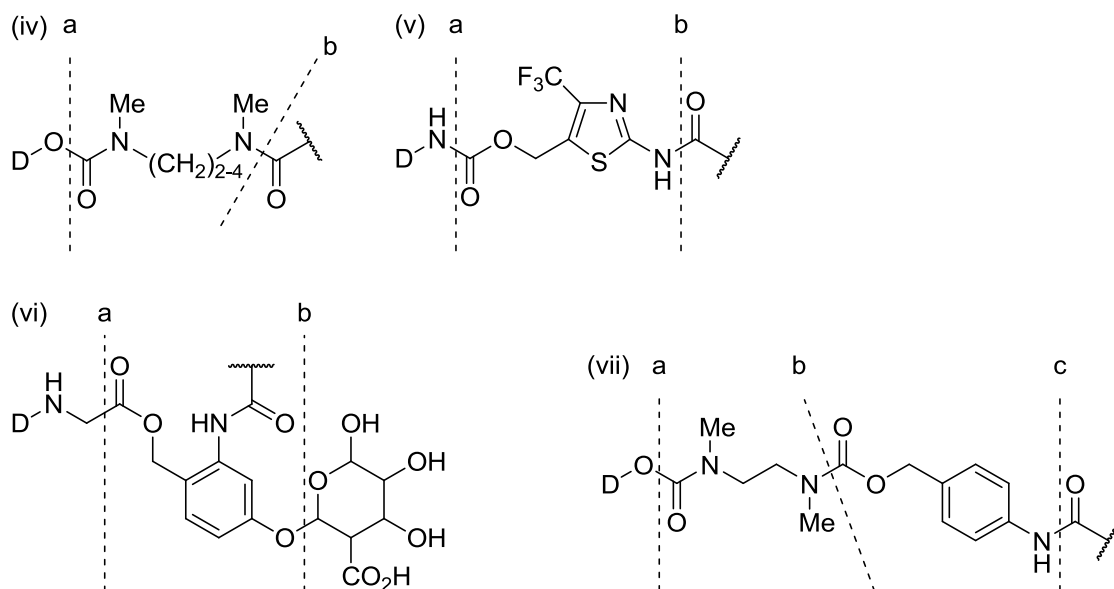
**[0092]** El enlazador puede realizar otras funciones además de enlazar covalentemente el anticuerpo y el fármaco. Por ejemplo, el enlazador puede contener un grupo poli(etilenglicol) ("PEG"). Dado que la etapa de conjugación generalmente implica el acoplamiento de un fármaco-enlazador a un anticuerpo en un medio acuoso, un grupo PEG puede aumentar la solubilidad acuosa del fármaco-enlazador. Además, un grupo de PEG puede aumentar la solubilidad o reducir la agregación en el ADC resultante. Cuando un grupo PEG está presente, puede incorporarse en el espaciador X<sup>Z</sup> o X<sup>D</sup>, o en ambos. El número de unidades repetidas en un grupo PEG puede ser de 2 a 20, preferiblemente de 4 a 10.

**[0093]** El espaciador X<sup>Z</sup> o X<sup>D</sup>, o ambos, pueden comprender un fragmento autoinmolante.

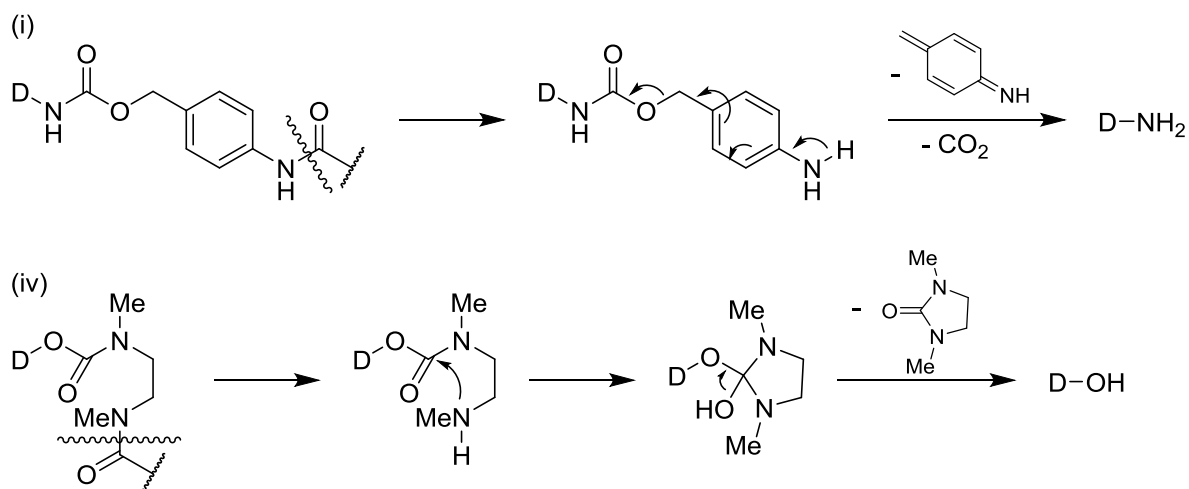
Una fracción autoinmolable es una fracción que (1) está unida a C y cualquiera Z o D y (2) tiene una estructura tal que la escisión del grupo C inicia una secuencia de reacción que resulta en el fragmento autoinmolante que se separa de Z o D, según sea el caso. En otras palabras, la reacción en un sitio distal de Z o D (escisión del grupo C) hace que el enlace X<sup>Z</sup>-Z o X<sup>D</sup>-D también se rompa. La presencia de un fragmento autoinmolante es deseable en el caso del espaciador X<sup>D</sup> porque, si, después de la escisión del conjugado, el espaciador X<sup>D</sup> o una porción del mismo permaneciera unido a D, la actividad biológica de D puede verse afectada. El uso de un fragmento autoinmolante es especialmente deseable cuando el grupo C escindible es un polipéptido, en cuyo caso el fragmento autoinmolante está típicamente ubicado adyacente al mismo, para evitar que D interfiera estéricamente o electrónicamente con la escisión del péptido.

**[0094]** Ejemplos de fracciones autoinmolables (i)-(v) unidas a un grupo hidroxilo o amino de D se muestran a continuación:





**[0095]** El fragmento autoinmolante es la estructura entre las líneas de puntos a y b (o las  
 5 líneas de puntos b y c), con características estructurales adyacentes que se muestran para  
 proporcionar contexto. Las fracciones autoinmolables (i) y (v) están unidas a un DNH<sub>2</sub> (es decir,  
 la conjugación es a través de un grupo amino), mientras que los fragmentos autoinmolantes (ii),  
 (iii) y (iv) están unidas a una DOH (es decir, la conjugación es a través de un grupo hidroxilo o  
 10 carboxilo). La escisión del enlace en la línea de puntos b por una enzima - una peptidasa en el  
 caso de las estructuras (i)-(v) y una β-glucuronidasa en el caso de la estructura (vi) - inicia una  
 secuencia de reacción de autoinmolación que resulta en la escisión del enlace en la línea  
 punteada a y la consiguiente liberación de DOH o DNH<sub>2</sub>, según sea el caso. A modo de  
 ilustración, a continuación se muestran los mecanismos de autoinmolación para las estructuras (i)  
 y (iv):



**[0096]** En otras palabras, la escisión de un primer enlace químico en una parte de un grupo autoinmolado inicia una secuencia de pasos que resulta en la escisión de un segundo enlace químico - que conecta el grupo autoinmolante con el fármaco - en una parte diferente del grupo autoinmolado, liberando así el fármaco.

- 5 **[0097]** En algunos casos, los grupos autoinmolables se pueden usar en tándem, como lo muestra la estructura (vii). En tal caso, la escisión en la línea de puntos c desencadena la autoinmolación de la fracción entre las líneas de puntos b y c por una reacción de eliminación 1,6, seguida de la autoinmolación de la fracción entre las líneas de puntos a y b por una reacción de ciclado-eliminación. Para divulgaciones adicionales con respecto a fracciones de autoinmolación, consulte Carl, J. Med. Chem. **1981**, 24, 479; Carl, WO 81/01145 (1981); Dubowchik, *Pharmacology & Therapeutics* **1999**, 83, 67; Firestone, US 6,214,345 B1 (2001); Toki, J. Org. Chem. **2002**, 67, 1866; Doronina, *Nature Biotechnology* **2003**, 21, 778 (erratum, p. 941); Boyd, EE.UU. 7,691,962 B2; Boyd EE.UU. 2008/0279868 A1; Sufi, WO 2008/083312 A2; Feng, EE.UU. 7,375,078 B2; Jeffrey, EE.UU. 8,039,273; y Senter EE.UU. 2003/0096743 A1; las divulgaciones de las cuales se incorporan como referencia.

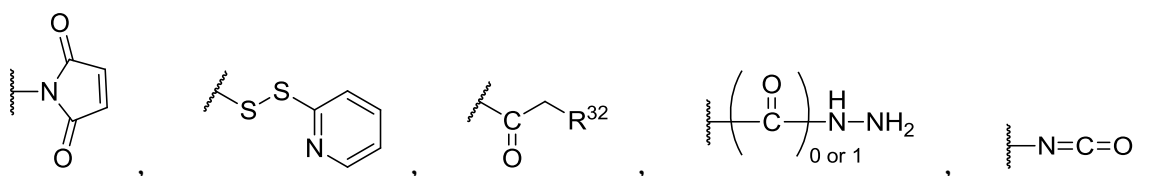
**[0098]** En otra modalidad, Z y D están unidos por un enlazador no escindible, es decir, C está ausente. El metabolismo de D eventualmente reduce el enlazador a una pequeña porción adjunta que no interfiere con la actividad biológica de D.

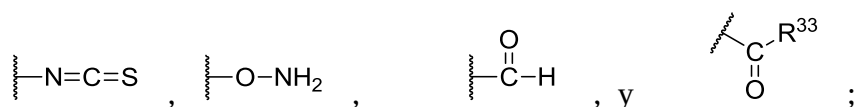
#### *Técnicas de Conjugación*

- 20 **[0099]** Los conjugados de agonistas de TLR7 descritos en el presente documento se fabrican preferiblemente preparando primero un compuesto que comprende D y el enlazador  $(X^D)_a(C)(X^Z)_b$  (donde  $X^D$ , C,  $X^Z$ , a, b, y c son los definidos para la fórmula (II)) para formar un compuesto fármaco-enlazador representado por la fórmula (V):



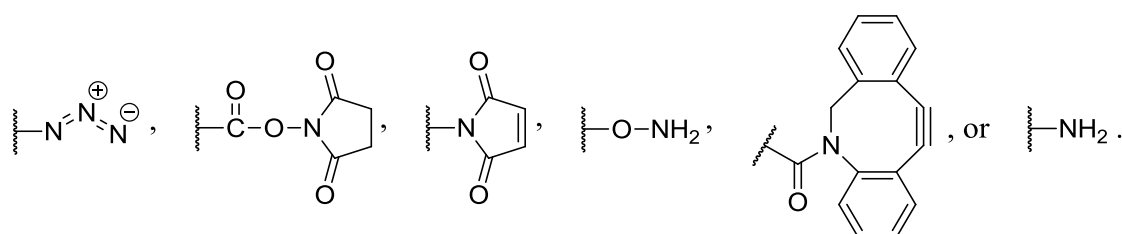
- 25 donde  $R^{31}$  es un grupo funcional adecuado para reaccionar con un grupo funcional complementario en Z para formar el conjugado. Ejemplos de grupos adecuados  $R^{31}$  incluyen amino, azida, tiol, ciclooctina,





donde  $\text{R}^{32}$  es Cl, Br, F, mesilato, o tosilato y  $\text{R}^{33}$  es Cl, Br, I, F, OH, -O-N-succinimidilo, -O-(4-nitrofenilo), -O-pentafluorofenilo, o -O-tetrafluorofenilo. La química generalmente utilizable para la preparación de fracciones  $\text{D}(\text{X}^{\text{D}})_a\text{C}(\text{X}^{\text{Z}})_b\text{R}^{31}$  adecuados se describe en Ng, EE.UU. 7,087,600 B2 (2006); Ng, EE.UU. 6,989,452 B2 (2006); Ng, EE.UU. 7,129,261 B2 (2006); Ng, WO 02/096910 A1; Boyd y otros, EE.UU. 7,691,962 B2; Chen, EE.UU. 7,517,903 B2 (2009); Gangwar, EE.UU. 7,714,016 B2 (2010); Boyd, EE.UU. 2008/0279868 A1; Gangwar, EE.UU. 7,847,105 B2 (2010); Gangwar, EE.UU. 7,968,586 B2 (2011); Sufi, EE.UU. 8,461,117 B2 (2013); y Chen, EE.UU. 8,664,407 B2 (2014); las descripciones de las cuales se incorporan aquí como referencia.

**[00100]** Preferiblemente, el grupo funcional reactivo  $\text{R}^{31}$  es  $\text{NH}_2$ , OH,  $\text{CO}_2\text{H}$ , SH, maleimido, ciclooctina, azido( $\text{N}_3$ ), hidroxilamino ( $\text{ONH}_2$ ) o N hidroxisuccinimido. Los grupos funcionales  $\text{R}^{31}$  especialmente preferidos son:



**[00101]** Un grupo -OH puede esterificarse con un grupo carboxi en el anticuerpo, por ejemplo, en una cadena lateral de ácido aspártico o glutámico.

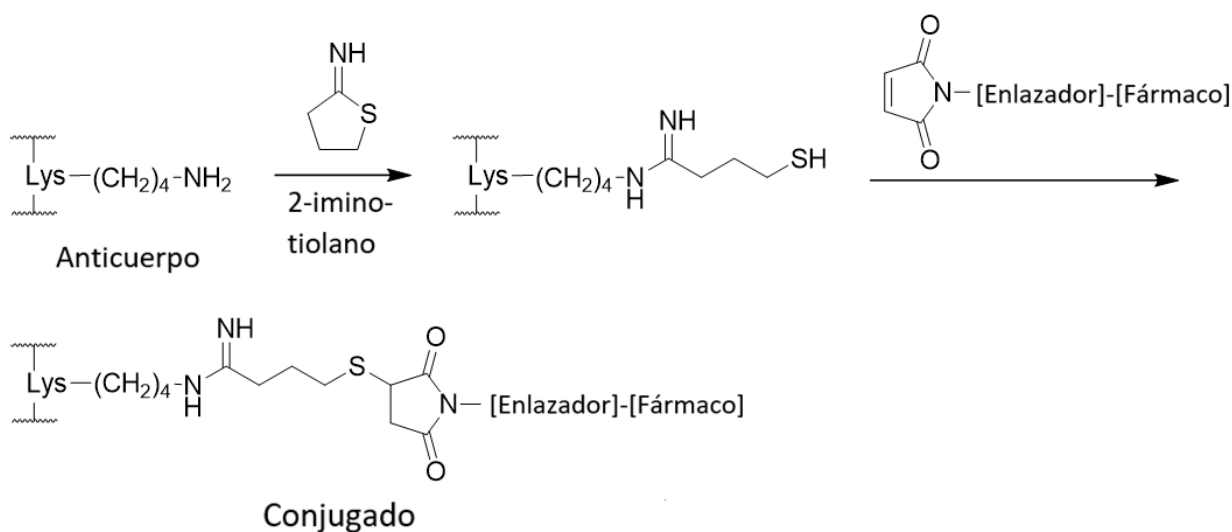
**[00102]** Un grupo  $\text{-CO}_2\text{H}$  puede esterificarse con un grupo -OH o amidarse con un grupo amino (por ejemplo, en una cadena lateral de lisina) en el anticuerpo.

**[00103]** Un grupo N-hidroxisuccinimida es funcionalmente un grupo carboxilo activado y puede ser amidado convenientemente por reacción con un grupo amino (por ejemplo, a partir de lisina).

**[00104]** Un grupo maleimida se puede conjugar con un grupo SH en el anticuerpo (por ejemplo, a partir de cisteína o de la modificación química del anticuerpo para introducir una funcionalidad sulfhidrilo), en una reacción de adición de Michael.

**[00105]** Cuando un anticuerpo no tiene una cisteína -SH disponible para conjugación, un grupo  $\epsilon$ -amino en la cadena lateral de un residuo de lisina puede reaccionar con 2-iminotiolano o

N-succinimidil-3-(2-piridilditio) propionato (“SPDP”) para introducir un grupo tiol libre (-SH)- creando un sustituto de cisteína, por así decirlo. El grupo tiol puede reaccionar con una maleimida u otro grupo aceptor de nucleófilos para efectuar la conjugación. El mecanismo se ilustra a continuación con 2-iminotiolano.



5

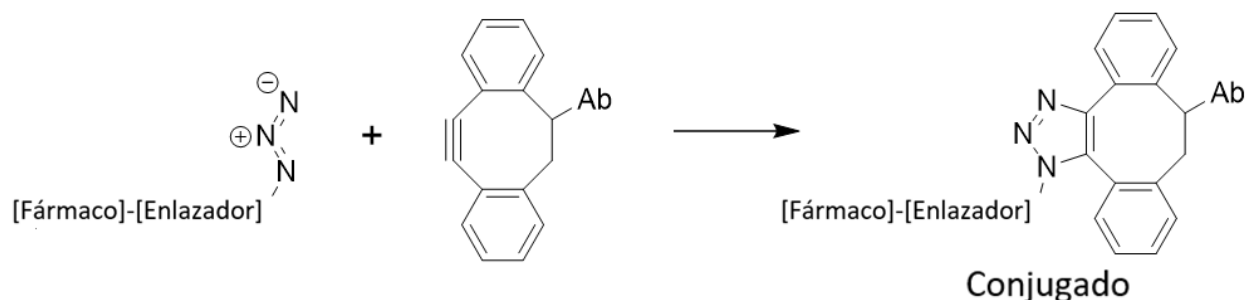
**[00106]** Normalmente, se alcanza un nivel de tiolación de dos a tres tioles por anticuerpo. Para un procedimiento representativo, consulte Cong, EE.UU. 8,980,824 B2 (2015), cuya divulgación se incorpora aquí como referencia.

**[00107]** En una disposición invertida, un anticuerpo Z puede modificarse con 4-(maleimidometil)-ciclohexanocarboxilato de succinimidilo ("SMCC") o su variante sulfo-SMCC sulfonada, ambos disponibles en Sigma-Aldrich, para introducir un grupo maleimida del mismo. Luego, la conjugación puede efectuarse con un compuesto de fármaco-enlazador que tenga un grupo -SH en el enlazador.

**[00108]** Un método alternativo de conjugación emplea una "química de clic" libre de cobre, en la que un grupo azida se agrega a través de un ciclooctino tenso para formar un anillo de 1,2,3-triazol. Véase, por ejemplo, Agard, *J. Amer. Chem. Soc.* 2004, 126, 15046; Best, *Biochemistry* 2009, 48, 6571, cuyas descripciones se incorporan en el presente documento como referencia. La azida se puede ubicar en el anticuerpo y el ciclooctino en la fracción de fármaco - enlazador, o viceversa. Un grupo ciclooctino preferido es dibenzociclooctino (DIBO). Varios reactivos que tienen un grupo DIBO están disponibles en Invitrogen / Sondas Moleculares,

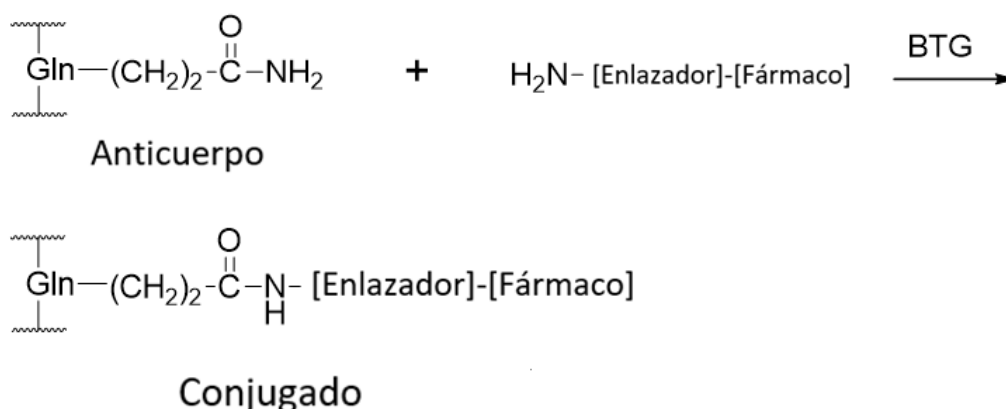
20

Eugene, Oregon. La siguiente reacción ilustra la conjugación química de clics para el caso en el que el grupo DIBO está unido al anticuerpo (Ab):



**[00109]** Aún otra técnica de conjugación implica la introducción de un aminoácido no natural en un anticuerpo, con el aminoácido no natural que proporciona una funcionalidad para la conjugación con un grupo funcional reactivo en la fracción de fármaco. Por ejemplo, el aminoácido no natural p-acetilfenilalanina puede incorporarse en un anticuerpo u otro polipéptido, como se enseña en Tian, WO 2008/030612 A2 (2008). El grupo cetona en p-acetilfenilalanina puede ser un sitio de conjugación a través de la formación de una oxima con un grupo hidroxilamino en la fracción de enlazador-fármaco. Alternativamente, el aminoácido no natural p-azidofenilalanina puede incorporarse en un anticuerpo para proporcionar un grupo funcional azida para la conjugación mediante química de clics, como se discutió anteriormente. Los aminoácidos no naturales también pueden incorporarse en un anticuerpo u otro polipéptido utilizando métodos sin células, como se describe en Goerke, US 2010/0093024 A1 (2010) y Goerke, *Biotechnol. Bioeng.* **2009**, 102 (2), 400-416. Las descripciones anteriores se incorporan aquí como referencia. Por lo tanto, en una modalidad, un anticuerpo que se usa para hacer un conjugado tiene uno o más aminoácidos reemplazados por un aminoácido no natural, que preferiblemente es p-acetilfenilalanina o p-azidofenilalanina, más preferiblemente p-acetilfenilalanina.

**[00110]** Todavía otra técnica de conjugación utiliza la enzima transglutaminasa (preferiblemente transglutaminasa bacteriana de *Streptomyces mobaraensis* o BTG), según Jeger, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, 49, 9995. BTG forma un enlace amida entre la carboxamida de la cadena lateral de una glutamina (el aceptor de amina) y un grupo alquilenamino (el donante de amina), que puede ser, por ejemplo, el grupo ε-amino de una lisina o un grupo 5-amino-n -pentilo. En una reacción de conjugación típica, el residuo de glutamina se localiza en el anticuerpo, mientras que el grupo alquilenamino se ubica en la fracción de enlazador-fármaco, como se muestra a continuación:



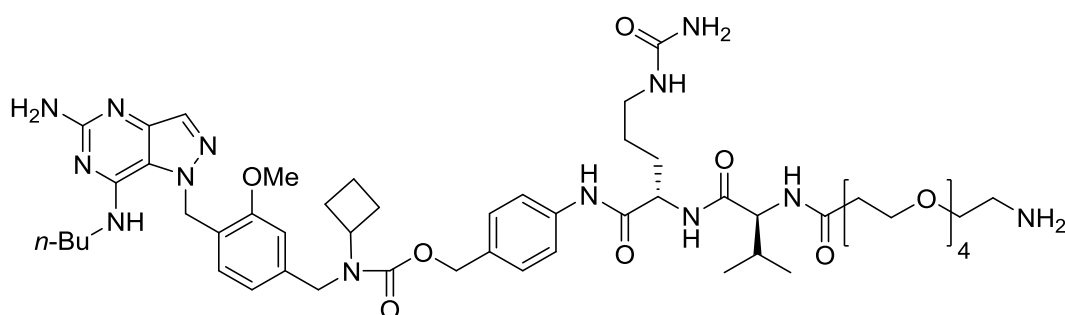
**[00111]** La colocación de un residuo de glutamina en una cadena polipeptídica tiene un gran efecto sobre su susceptibilidad a la transamidación mediada por BTG. Ninguno de los residuos de glutamina en un anticuerpo son normalmente sustratos BTG. Sin embargo, si el anticuerpo está desglicosilado, el sitio de glicosilación es la asparagina 297 (N297; la numeración por índice de la UE como se establece en Kabat, "Secuencias de proteínas de interés inmunológico", 5ª ed., Pub. No. 91-3242, Departamento de Salud y Servicios Humanos de los Estados Unidos, NIH, Bethesda, Md., 1991; en lo sucesivo, "Kabat") de la cadena pesada, la glutamina 295 (Q295) cercana se vuelve susceptible a BTG. Un anticuerpo puede desglicosilarse enzimáticamente por tratamiento con PNGasa F (péptido-N-glicosidasa F). Alternativamente, un anticuerpo puede sintetizarse libre de glucósidos mediante la introducción de una mutación N297A en la región constante, para eliminar el sitio de glicosilación N297. Además, se ha demostrado que una sustitución N297Q no solo elimina la glicosilación, sino que también introduce un segundo residuo de glutamina (en la posición 297) que también es un aceptor de amina. De este modo, en una modalidad, el anticuerpo está desglicosilado. En otra modalidad, el anticuerpo tiene una sustitución N297Q. Los expertos en la materia apreciarán que la desglicosilación mediante la modificación posterior a la síntesis o tras introducir una mutación N297A genera dos residuos de glutamina reactivos a BTG por anticuerpo (uno por cadena pesada, en la posición 295), mientras que un anticuerpo con una sustitución N297Q tendrá cuatro residuos de glutamina reactivos a BTG (dos por cadena pesada, en las posiciones 295 y 297).

**[00112]** Un anticuerpo también puede volverse susceptible a la conjugación mediada por BTG introduciendo en él un péptido que contiene glutamina, o "etiqueta", como se describe, por ejemplo, en Pons, EE.UU. 2013/0230543 A1 (2013) y Rao-Naik, documento WO 2016/144608 A1.

[00113] En un enfoque complementario, la especificidad de sustrato de BTG se puede alterar variando su secuencia de aminoácidos, de modo que sea capaz de reaccionar con glutamina 295 en un anticuerpo no modificado, como se describe en Rao-Naik, WO 2017/059158 A1 (2017).

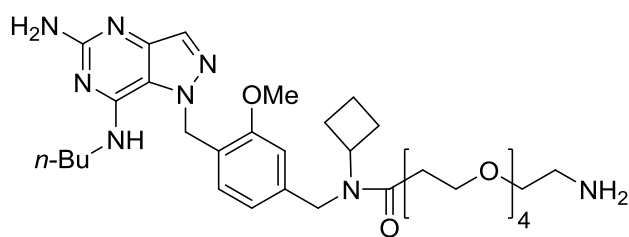
[00114] Si bien la transglutaminasa bacteriana más comúnmente disponible es la de *S. mobaraensis*, se puede considerar la transglutaminasa de otras bacterias, que tienen especificidades de sustrato algo diferentes, como la transglutaminasa de *Streptoverticillium ladakanum* (Hu, EE.UU. 2009/0318349 A1 (2009), EE.UU. 2010/0099610 A1 (2010), y EE.UU. 2010/0087371 A1 (2010)).

[00115] Los agonistas de TLR7 de esta descripción que tienen una amina de alquilo primaria o secundaria son particularmente adecuados para su uso en conjugados, ya que la amina secundaria proporciona un grupo funcional para la unión del enlazador. Un ejemplo de dicho compuesto agonista-enlazador TLR7 es el compuesto **41**, que contiene un enlazador enzimáticamente escindible. La FIG. 15 muestra un esquema según el cual se puede preparar el compuesto **41**.



**41**

[00116] Un ejemplo de un compuesto agonista-enlazador TLR7 que contiene un enlazador no enzimáticamente escindible es el compuesto **43**. La FIG. 16 muestra una ruta para sintetizar el compuesto **43**.



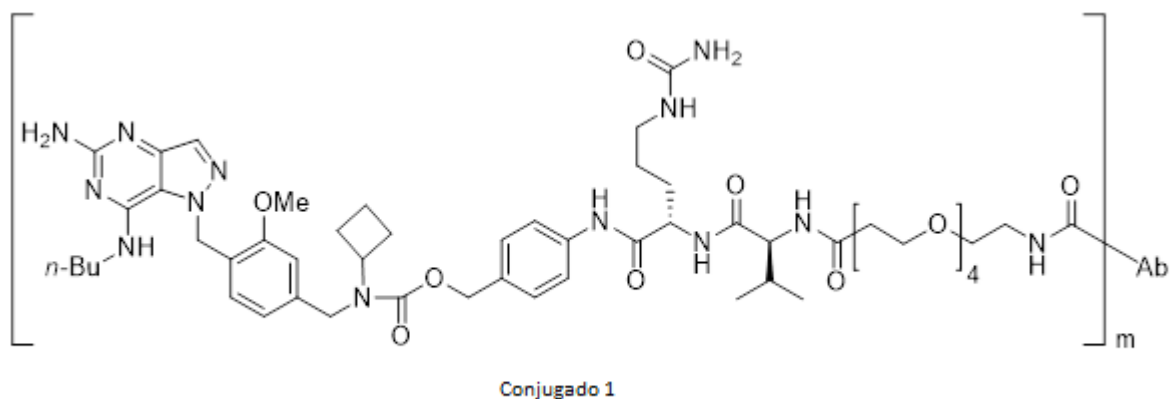
**43**

[00117] Ambos compuestos **41** y **43** contienen un grupo alquilamino primario, haciéndolos susceptibles a la conjugación con transglutaminasa. Un procedimiento de conjugación adecuado se describe en los Ejemplos a continuación.

[00118] La conjugación también puede efectuarse utilizando la enzima Sortasa A, como se describe en Levary, *PLoS One* 2011, 6 (4), e18342; Proft, *Biotechnol. Lett.* **2010**, 32, 1-10; Ploegh, WO 2010/087994 A2 (2010); y Mao, WO 2005/051976 A2 (2005). El motivo de reconocimiento de la Sortasa A (típicamente LPXTG, donde X es cualquier aminoácido natural) puede estar ubicado en el ligando Z y el motivo del aceptor nucleófilo (típicamente GGG) puede ser el grupo R<sup>31</sup> en la Fórmula (III), o viceversa.

#### Conjugados Agonistas de TLR7

[00119] Aplicando las técnicas anteriormente descritas, se pueden preparar conjugados agonistas de TLR7 tales como los que se muestran a continuación:



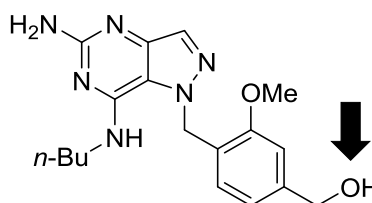
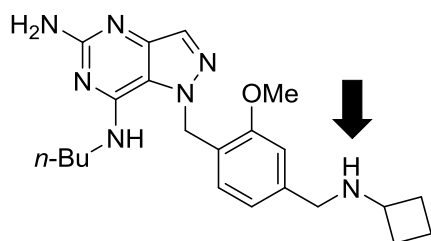
donde m es 1, 2, 3 o 4 y Ab es un anticuerpo.

## PEGILACIÓN

**[00120]** La unión de una cadena de poli(etilenglicol) (PEG) a un fármaco ("PEGilación") puede mejorar las propiedades farmacocinéticas de este último. La vida media de circulación del fármaco aumenta, a veces en más de un orden de magnitud, reduciendo concomitantemente la dosis necesaria para lograr un efecto terapéutico deseado. La PEGilación también puede disminuir la degradación metabólica de un fármaco y reducir su inmunogenicidad. Para una revisión, véase Kolate, *J. Controlled Release* **2014**, 192, 167.

**[00121]** Inicialmente, la PEGilación se aplicó a fármacos biológicos. A partir de 2016, más de diez biológicos PEGilados habían sido aprobados. Turecek, *J. Pharmaceutical Sci.* **2016**, 105, 460. Más recientemente, estimulada por la aplicación exitosa del concepto a los productos biológicos, la atención se ha dirigido hacia su aplicación a fármacos de moléculas pequeñas. Además de los beneficios mencionados anteriormente, los fármacos de molécula pequeña PEGilada pueden tener mayor solubilidad y causar menos efectos tóxicos. Li *et al. Prog. Polymer Sci.* **2013**, 38, 421.

**[00122]** Los compuestos descritos en el presente documento pueden ser PEGilados. Cuando un compuesto tiene una amina primaria o secundaria alifática o un hidroxilo alifático, como el caso de los compuestos que se muestran a continuación (flechas), puede PEGilarse a través de un grupo éster, amida, carbonato o carbamato con una molécula de PEG que contiene carboxi utilizando técnicas convencionales tales como diciclohexilcarbodiimida, HATU, ésteres de N-hidroxisuccinimida, y similares. Otros métodos para PEGilar moléculas farmacéuticas se describen en Alconcel, *Polymer Chem.* **2011**, 2, 1442, cuya divulgación se incorpora en la presente como referencia.



**[00123]** Si se desea, un agonista de TLR7 descrito en el presente documento puede PEGilarse mediante un enlazador escindible enzimáticamente que comprende un fragmento autoinmolante, para permitir la liberación del agonista no PEGilado de una manera diseñada. Además, la PEGilación se puede combinar con la conjugación a una proteína tal como un anticuerpo, si la molécula que contiene PEG tiene un grupo funcional adecuado, tal como una amina, para unirse

5



**[00124]** En la secuencia de reacción anterior, el dipéptido valina-citrulina (Val-Cit) es escindible por la enzima catepsina B, con un grupo p-aminobencil oxycarbonilo (PABC) que actúa como un espaciador autoinmolante. El grupo funcional para la conjugación es un grupo amina, que está temporalmente protegido por un grupo Fmoc. La conjugación se efectúa por la enzima transglutaminasa, con una cadena lateral de glutamina (Gln) que actúa como el aceptor de acilo. El subíndice x, que denota el número de unidades de repetición de PEG, puede variar ampliamente, dependiendo del propósito de la PEGilación, como se explica a continuación. Para algunos propósitos, x puede ser relativamente pequeño, como 2, 4, 8, 12 o 24. Para otros fines, x es grande, por ejemplo, entre 45 y 910 aproximadamente.

**[00125]** Los expertos en la técnica entenderán que la secuencia es ilustrativa y que se pueden emplear otros elementos -péptido, grupo autoinmolante, método de conjugación, longitud de PEG, etc.-, como es bien conocido en la técnica. También entenderán que, mientras que la secuencia anterior combina PEGilación y conjugación, la PEGilación no requiere conjugación, y *viceversa*.

**[00126]** Cuando el compuesto carece de hidroxilo alifático o amina primaria o secundaria alifática, todavía puede PEGilarse en la amina aromática en el anillo de pirimidina. Un método de PEGilación en esta posición se divulga en Zarraga, EE.UU. 2017/0166384 A1 (2007), cuya descripción se incorpora como referencia.

**[00127]** En algunas modalidades, puede ser deseable tener múltiples agonistas PEGilados unidos en una única molécula. Por ejemplo, cuatro brazos PEGilados se pueden construir sobre pentaeritritol ( $C(CH_2OH)_4$ ) y se puede unir un agonista de TLR7 a cada brazo PEGilado. Véase Gao, EE.UU. 2013/0028857 A1 (2013), cuya divulgación se incorpora como referencia.

**[00128]** Para modular la farmacocinética, generalmente se prefiere que la fracción PEG tenga un peso de fórmula de entre 2 kDa aproximadamente (correspondiente a 45 unidades de repetición aproximadamente  $(CH_2CH_2O)$ ) y entre 40 kDa aproximadamente (que corresponde a 910 unidades de repetición aproximadamente  $(CH_2CH_2O)$ ), más preferiblemente entre 5 kDa y 20 kDa aproximadamente. Es decir, el rango del subíndice x en la fórmula anterior es de 45 a 910 aproximadamente. Debe entenderse que las composiciones de PEG no son 100% homogéneas sino que, más bien, exhiben una distribución de pesos moleculares. Por lo tanto, una referencia a, por ejemplo, "PEG de 20 kDa" significa PEG que tiene un peso molecular promedio de 20 kDa.

**[00129]** La PEGilación también se puede utilizar para mejorar la solubilidad de un agonista. En tales casos, se puede usar una cadena PEG más corta, por ejemplo, que comprende 2, 4, 8, 12 o 24 unidades de repetición.

## COMPOSICIONES FARMACEUTICAS Y ADMINISTRACIÓN

5 **[00130]** En otro aspecto, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto como se describe en el presente documento, o un conjugado del mismo, formulado junto con un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable. Opcionalmente, puede contener uno o más ingredientes farmacéuticamente activos adicionales, tales como un fármaco biológico o de moléculas pequeñas. Las composiciones farmacéuticas pueden administrarse en  
10 una terapia de combinación con otro agente terapéutico, especialmente un agente anticancerígeno.

**[00131]** La composición farmacéutica puede comprender uno o más excipientes. Los excipientes que pueden utilizarse incluyen vehículos, agentes de superficie activa, agentes espesantes o emulsionantes, aglutinantes sólidos, adyuvantes de dispersión o suspensión,  
15 solubilizantes, colorantes, agentes aromatizantes, revestimientos, agentes desintegrantes, lubricantes, edulcorantes, conservantes, agentes isotónicos y combinaciones de los mismos. La selección y el uso de excipientes adecuados se enseña en Gennaro, ed., *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, 20ª ed. (Lippincott Williams & Wilkins 2003).

**[00132]** Preferiblemente, una composición farmacéutica es adecuada para la administración  
20 intravenosa, intramuscular, subcutánea, parenteral, espinal o epidérmica (*ej.*, mediante inyección o infusión). Dependiendo de la vía de administración, el compuesto activo se puede recubrir con un material para protegerlo de la acción de los ácidos y otras condiciones naturales que pueden inactivarlo. La expresión “administración parenteral” se refiere a modos de administración distintos de la administración enteral y tópica, normalmente mediante inyección, e incluye, sin  
25 limitación, inyección e infusión intravenosa, intramuscular, intraarterial, intratecal, intracapsular, intraorbital, intracardiaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal, subcutánea, subcuticular, intraarticular, subcapsular, subaracnoide, intraespinal, epidural e intraesternal. Alternativamente, la composición farmacéutica se puede administrar por una vía no parenteral, tal como una vía de administración tópica, epidérmica o mucosa, por ejemplo, por vía intranasal, oral, vaginal, rectal,  
30 sublingual o tópica.

**[00133]** Las composiciones farmacéuticas pueden estar en forma de soluciones o dispersiones acuosas estériles. También pueden formularse en una microemulsión, liposoma u otra estructura ordenada adecuada para lograr una alta concentración de fármaco. Las composiciones también se pueden proporcionar en la forma de liofilizados, para la reconstitución en agua antes de la administración.

**[00134]** La cantidad de ingrediente activo que puede combinarse con un material portador para producir una forma de dosificación única variará dependiendo del sujeto que se esté tratando y del modo particular de administración y generalmente será esa cantidad de la composición que produce un efecto terapéutico. En general, del cien por ciento, esta cantidad oscilará entre el 0,01 por ciento y noventa y nueve por ciento aproximadamente del ingrediente activo, preferiblemente entre aproximadamente el 0,1 por ciento y aproximadamente el 70 por ciento, lo más preferiblemente entre aproximadamente el 1 por ciento y aproximadamente el 30 por ciento. Porcentaje de ingrediente activo en combinación con un portador farmacéuticamente aceptable.

**[00135]** Los regímenes de dosificación se ajustan para proporcionar una respuesta terapéutica. Por ejemplo, se puede administrar un único bolo, varias dosis divididas pueden ser administradas con el tiempo o la dosis puede reducirse o aumentarse proporcionalmente como se indica por las exigencias de la situación. Es especialmente ventajoso formular las composiciones farmacéuticas en forma de dosificación unitaria para facilidad de administración y uniformidad de dosificación. “Forma de dosificación unitaria” se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosis unitarias para los sujetos a tratar; cada unidad contiene una cantidad predeterminada de compuesto activo calculada para producir la respuesta terapéutica deseada, en asociación con el vehículo farmacéutico requerido.

**[00136]** La dosificación oscila de 0,0001 a 100 mg/kg aproximadamente, y más habitualmente de 0,01 a 5 mg/kg, del peso corporal del hospedero. Por ejemplo, las dosis pueden ser de 0,3 mg/kg de peso corporal, 1 mg/kg de peso corporal, 3 mg/kg de peso corporal, 5 mg/kg de peso corporal o 10 mg/kg de peso corporal o dentro del rango de 1-10 mg/kg, o alternativamente de 0,1 a 5 mg/kg. Los regímenes de tratamiento de ejemplo se administran una vez por semana, una vez cada dos semanas, una vez cada tres semanas, una vez cada cuatro semanas, una vez al mes, una vez cada 3 meses o una vez cada tres a 6 meses. Los regímenes de dosificación preferidos incluyen 1 mg/kg de peso corporal o 3 mg/kg de peso corporal mediante administración intravenosa, utilizando uno de los siguientes esquemas de dosificación: (i) cada cuatro semanas

para seis dosis, luego cada tres meses; (ii) cada tres semanas; (iii) 3 mg/kg de peso corporal una vez seguido de 1 mg/kg de peso corporal cada tres semanas. En algunos métodos, la dosis se ajusta para lograr una concentración de anticuerpos en plasma de aproximadamente 1-1000 µg/ml y en algunos métodos de aproximadamente 25-300 µg/ml.

5    **[00137]**    Una "cantidad terapéuticamente eficaz" de un compuesto de la invención produce preferiblemente una disminución en la severidad de los síntomas de la enfermedad, un aumento en la frecuencia y duración de los períodos sin síntomas de la enfermedad, o una prevención del deterioro o discapacidad debido a la aflicción de la enfermedad. Por ejemplo, para el tratamiento de sujetos con tumores, una "cantidad terapéuticamente eficaz" inhibe preferiblemente el  
10    crecimiento tumoral en al menos aproximadamente el 20%, más preferiblemente en al menos aproximadamente el 40%, incluso más preferiblemente en al menos aproximadamente el 60%, y aún así más preferiblemente en al menos aproximadamente el 80% en relación con los sujetos no tratados. Una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto terapéutico puede disminuir el tamaño del tumor, o mejorar los síntomas en un sujeto, que es típicamente un ser humano pero  
15    puede ser otro mamífero. Cuando dos o más agentes terapéuticos se administran en un tratamiento de combinación, la "cantidad terapéuticamente efectiva" se refiere a la eficacia de la combinación en un conjunto, y no a cada agente individualmente.

**[00138]**    La composición farmacéutica puede ser una formulación de liberación controlada o sostenida, que incluye implantes, parches transdérmicos y sistemas de administración  
20    microencapsulados. Polímeros biodegradables, biocompatibles se pueden utilizar, tales como etileno-acetato de vinilo, polianhídridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres, y ácido poliláctico. Véase, *ej.*, *Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems*, J.R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., Nueva York, 1978.

**[00139]**    Las composiciones terapéuticas pueden administrarse a través de dispositivos  
25    médicos tales como (1) dispositivos de inyección hipodérmica sin agujas; (2) bombas de micro-infusión; (3) dispositivos transdérmicos; (4) dispositivos de infusión; y (5) dispositivos osmóticos.

**[00140]**    En ciertas modalidades, la composición farmacéutica puede formularse para asegurar una distribución adecuada *in vivo*. Por ejemplo, para garantizar que los compuestos terapéuticos  
30    de la invención atraviesen la barrera hematoencefálica, pueden formularse en liposomas, que pueden comprender adicionalmente grupos dirigidos para mejorar el transporte selectivo a células u órganos específicos.

## APLICABILIDAD INDUSTRIAL

**[00141]** Los compuestos agonistas de TLR7 descritos en el presente documento pueden usarse para el tratamiento de una enfermedad o afección que puede mejorarse mediante la activación de TLR7.

5 **[00142]** En una modalidad, el agonista de TLR7 se usa en combinación con un agente de inmunoterapia anticancerígeno, también conocido como un agente de inmunooncología. Un agente de inmunoterapia contra el cáncer actúa estimulando el sistema inmunitario del cuerpo para atacar y destruir las células cancerígenas, especialmente a través de la activación de las células T. El sistema inmunológico tiene numerosas moléculas de punto de control  
10 (reguladoras), que ayudan a mantener un equilibrio entre las células diana legítimas que atacan y evitan que ataquen a las células normales y sanas. Algunos son estimuladores (reguladores por aumento), lo que significa que su compromiso promueve la activación de las células T y mejora la respuesta inmunológica. Otros son inhibidores (reguladores por disminución o frenos), lo que significa que su compromiso inhibe la activación de las células T y disminuye la respuesta  
15 inmune. La unión de un agente de inmunoterapia agonista a una molécula de punto de control estimulante puede conducir a la activación de esta última y a una respuesta inmune mejorada contra las células cancerígenas. Recíprocamente, la unión de un agente de inmunoterapia antagonista a una molécula de punto de control inhibitoria puede prevenir la regulación negativa del sistema inmunológico por parte de este último y ayudar a mantener una respuesta vigorosa  
20 contra las células cancerígenas. Ejemplos de moléculas de punto de control estimuladoras son B7-1, B7-2, CD28, 4-1BB (CD137), 4-1BBL, ICOS, CD40, ICOS-L, OX40, OX40L, GITR, GITRL, CD70, CD27, CD40, DR3 y CD28H. Ejemplos de moléculas de punto de control inhibitorias son CTLA-4, PD-1, PD-L1, PD-L2, LAG-3, TIM-3, Galectina 9, CEACAM-1, BTLA, CD69, Galectina-1, CD113, GPR56, VISTA, 2B4, CD48, GARP, PD1H, LAIR1, TIM-1,  
25 CD96 y TIM-4.

**[00143]** Cualquiera que sea el modo de acción de un agente de inmunoterapia contra el cáncer, su efectividad puede incrementarse mediante una regulación general del sistema inmunitario, tal como mediante la activación de TLR7. Así, en una modalidad, esta especificación proporciona un método para tratar un cáncer, que comprende administrar a un  
30 paciente que padece tal cáncer una combinación terapéuticamente eficaz de un agente de inmunoterapia anticancerígena y un agonista de TLR7 como se describe en el presente documento. El momento de la administración puede ser simultáneo, secuencial o alterno. El

modo de administración puede ser sistémico o local. El agonista TLR7 se puede administrar de manera específica, a través de un conjugado.

**[00144]** Los cánceres que pueden ser tratados mediante un tratamiento de combinación como se describe anteriormente incluyen leucemia mieloide aguda, carcinoma adrenocortical, sarcoma de Kaposi, linfoma, cáncer anal, cáncer de apéndice, tumor teratoide/rabdoide, carcinoma de células basales, cáncer del conducto biliar, cáncer de vejiga, cáncer de hueso, cáncer de cerebro, cáncer de mama, Tumor bronquial, tumor carcinoide, tumor cardíaco, cáncer cervical, cordoma, leucemia linfocítica crónica, neoplasia mieloproliferativa crónica, cáncer de colon, cáncer colorrectal, craneofaringioma, cáncer de conducto biliar, cáncer endometrial, ependimoma, cáncer de esófago, estiopeuroblastoma, sarcoma de Ewing, cáncer de ojo, cáncer de la trompa de Falopio, cáncer de vesícula biliar, tumor carcinoide gastrointestinal, tumor del estroma gastrointestinal, tumor de células germinales, leucemia de células pilosas, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de corazón, cáncer de hígado, cáncer de hipofaringe, cáncer de páncreas, cáncer de riñón, cáncer de laringe, leucemia mielógena crónica, cáncer de labio y cavidad oral, cáncer de pulmón, melanoma, carcinoma de células de Merkel, mesotelioma, cáncer de boca, cáncer oral, osteosarcoma, cáncer de ovario, cáncer de pene, cáncer de faringe, cáncer de próstata, cáncer de recto, cáncer de la glándula salival, cáncer de piel, cáncer del intestino delgado, sarcoma de tejido blando, cáncer testicular, cáncer de garganta, cáncer de tiroides, cáncer de uretra, cáncer de útero, cáncer vaginal, y cáncer de vulva.

**[00145]** Agentes de inmunoterapia contra el cáncer que se pueden usar en terapias de combinación como se describe en el presente documento incluyen: AMG 557, AMP-224, atezolizumab, avelumab, BMS 936559, cemiplimab, CP-870893, dacetuzumab, durvalumab, enoblituzumab, galiximab, IMP321, ipilimumab, lucatumumab, MEDI-570, MEDI-6383, MEDI-6469, muromonab-CD3, nivolumab, pembrolizumab, pidilizumab, spartalizumab, tremelimumab, urelumab, utomilumab, varlilumab, vonlerolizumab. La tabla A a continuación enumera sus nombres alternativos (nombre de marca, nombre anterior, código de investigación o sinónimo) y la molécula objetivo del punto de control respectivo.

| Tabla A                 |    |                                  |                |
|-------------------------|----|----------------------------------|----------------|
| Agente de Inmunoterapia | de | Nombres alternativos             | Blanco         |
| AMG 557                 |    |                                  | B7RP-1 (ICOSL) |
| AMP-224                 |    |                                  | PD-1           |
| Atezolizumab            |    | MPDL3280A, RO5541267, TECENTRIQ® | PD-L1          |
| Avelumab                |    | BAVENCIO®                        | PD-L1          |
| BMS 936559              |    |                                  | PD-L1          |
| Cemiplimab              |    | LIBTAYO®                         | PD-1           |
| CP-870893               |    |                                  | CD40           |
| Dacetuzumab             |    |                                  | CD40           |
| Durvalumab              |    | IMFINZI®                         | PD-L1          |
| Enoblituzumab           |    | MGA271                           | B7-H3          |
| Galiximab               |    |                                  | B7-1 (CD80)    |
| IMP321                  |    |                                  | LAG-3          |
| Ipilimumab              |    | YERVOY®                          | CTLA-4         |
| Lucatumumab             |    |                                  | CD40           |
| MEDI-570                |    |                                  | ICOS (CD278)   |
| MEDI-6383               |    |                                  | OX40           |
| MEDI-6469               |    |                                  | OX40           |
| Muromonab-CD3           |    |                                  | CD3            |
| Nivolumab               |    | OPDIVO®                          | PD-1           |
| Pembrolizumab           |    | KEYTRUDA®                        | PD-1           |
| Pidilizumab             |    | MDV9300                          | PD-1           |
| Spartalizumab           |    | PDR001                           | PD-1           |
| Tremelimumab            |    | Ticilimumab, CP-675, CP-675,206  | CTLA-4         |
| Urelumab                |    | BMS-663513                       | CD137          |
| Utomilumab              |    | PF-05082566                      | CD137          |
| Varlilumab              |    | CDX 1127                         | CD27           |
| Vonlerolizumab          |    | RG7888, MOXR0916, pogalizumab    | OX40           |

**[00146]** En una modalidad de un tratamiento de combinación con un agonista de TLR7, el agente de inmunoterapia anticancerígeno es un anticuerpo antagonista anti-CTLA-4, anti-PD-1 o

anti-PD-L1. El cáncer puede ser cáncer de pulmón (incluyendo cáncer de pulmón de células no pequeñas), cáncer de páncreas, cáncer de riñón, cáncer de cabeza y cuello, linfoma (incluyendo linfoma de Hodgkin), cáncer de piel (incluyendo melanoma y cáncer de piel de Merkel), cáncer urotelial (incluyendo cáncer de vejiga), cáncer gástrico, cáncer hepatocelular o cáncer colorrectal.

**[00147]** En otra modalidad de un tratamiento de combinación con un agonista de TLR7, el agente de inmunoterapia anticanceroso es un anticuerpo antagonista anti-CTLA-4, preferiblemente ipilimumab.

**[00148]** En otra modalidad de un tratamiento de combinación con un agonista de TLR7, el agente de inmunoterapia anticanceroso es un anticuerpo antagonista anti-PD-1, preferiblemente nivolumab o pembrolizumab.

**[00149]** Los agonistas de TLR7 descritos en este documento también son útiles como adyuvantes de vacunas.

#### ACTIVIDAD BIOLÓGICA

**[00150]** La actividad biológica de los compuestos descritos en el presente documento como agonistas de TLR7 puede analizarse mediante los siguientes procedimientos.

##### *Ensayo de Actividad Agonista de TLR7 Humano*

**[00151]** Este procedimiento describe un método para ensayar la actividad agonista de TLR7 (hTLR7) de los compuestos descritos en esta memoria descriptiva.

**[00152]** Células azules de riñón humano embrionario modificadas (células HEK-Blue™ TLR; Invivogen) que poseen un transgén reportero fosfatado alcalino embrionario secretado por el TLR7 humano (SEAP) se suspendieron en un medio de cultivo no selectivo (DMEM de alto contenido de glucosa (Invitrogen), suplementado con un 10% de suero bovino fetal (Sigma)). Se agregaron células HEK-Blue™ TLR7 a cada pozo de una placa de cultivo de tejidos de 384 pozos (15,000 células por pozo) y se incubaron 16-18 h a 37 °C, CO<sub>2</sub> al 5%. Los compuestos (100 nl) se dispensaron en pozos que contenían células TLR HEK-Blue™ y las células tratadas se incubaron a 37 °C, CO<sub>2</sub> al 5%. Después de 18 h de tratamiento, se agregaron diez microlitros de reactivo Quanti-Blue™ recién preparado (Invivogen) a cada pozo, se incubaron durante 30 min (37 °C, CO<sub>2</sub> al 5%) y se midieron los niveles de SEAP utilizando un lector de placas Envision (OD = 620 nm). Se calcularon los valores de la concentración máxima efectiva media (EC<sub>50</sub>;

concentración del compuesto que indujo una respuesta a mitad de camino entre la línea de base del ensayo y el máximo).

#### *Inducción de Genes de Interferón Tipo I (MX-1) y CD69 en Sangre Humana*

**[00153]** La inducción de los genes MX-1 de interferón de Tipo I (IFN) y el marcador de activación de células B CD69 son eventos posteriores que se producen con la activación de la vía TLR7. El siguiente es un análisis de sangre total humana que mide su inducción en respuesta a un agonista de TLR7.

**[00154]** Se recolectó sangre entera humana heparinizada de sujetos humanos y se trató con compuestos agonistas de TLR7 de prueba a 1 mM. La sangre se diluyó con medio RPMI 1640 y se usó un prepot Eco 10 nL por pozo, proporcionando una concentración final de 1 uM (10 nL en 10 uL de sangre). Después de mezclar en un agitador durante 30 segundos, las placas se cubrieron y se colocaron en una cámara a 37 °C durante o/n = 17 h. Se preparó el tampón de fijación/lisis (5x-> 1x en H<sub>2</sub>O, se calentó a 37 °C; N° de cat. BD 558049) y se mantuvo el tampón permanente (en hielo) para su uso posterior.

**[00155]** Para tinción de marcadores de superficie (CD69): Abs preparados de superficie: 0.045ul hCD14-FITC (ThermoFisher Cat # MHCD1401) + 0.6ul hCD19-ef450 (ThermoFisher Cat # 48-0198-42) + 1.5ul hCD69-PE (cat# BD555531) + 0.855ul tampón FACS. Agregar 3ul/pozo, centrifugar 1000 rpm durante 1 minuto y mezclar en un agitador durante 30 segundos, colocar en hielo durante 30 minutos. Detener la estimulación después de 30 minutos con 70 uL de tampón de fijación/lisis precalentado 1x y usar Feliex mate para resuspender (15 veces, cambiar las puntas de cada placa) e incubar a 37 °C durante 10 minutos.

**[00156]** Centrifugar a 2000 rpm durante 5 minutos, aspirar con un lavador de placas HCS, mezclar en un agitador durante 30 segundos y luego lavar con 70 µL en dPBS y granular 2xs (2000 rpm durante 5 min) y 50ul lavar en tampón FACS 1x granular (2000 rpm por 5 min). Mezclar en el agitador durante 30 seg. Para tinción de marcadores intracelulares (MX-1): Agregar 50 ul de tampón BD Perm III y mezcle en un agitador durante 30 seg. Incubar en hielo durante 30 minutos (en la oscuridad). Lavar con 50 uL de tampón FACS 2X (centrifugado @ 2300rpm x 5min después de la perm), seguido de la mezcla en el agitador durante 30 seg. Resuspender en 20 uL de tampón FACS que contiene el anticuerpo MX1 () (4812) -Alexa 647: Novus Biologicals # NBP2-43704AF647) 20ul FACS bf + 0.8ul hIgG + 0.04ul MX-1. Centrifugar a 1000 rpm durante 1 minuto, mezcle en un agitador durante 30 segundos e incube

las muestras a temperatura ambiente en la oscuridad durante 45 minutos, seguido de un lavado de tampón FACS 2 veces (centrifugar a 2300 rpm cada 5 minutos después de la perm). Resuspender 20uL (35 uL en total por pozo) de tampón FACS y cubrir con papel de aluminio y colocar a 4 °C para leer el día siguiente. Las placas se leyeron en iQuePlus. Los resultados se cargaron en el conjunto de herramientas y las curvas IC50 se generaron en la curva maestra. El 100% del eje-y se establece en 1 uM de resiquimod.

#### *Inducción de los Genes de Respuesta IFN de tipo I y TNF-alfa en Sangre de Ratón*

**[00157]** La inducción de TNF-alfa y los genes de respuesta de IFN Tipo I son eventos posteriores que se producen con la activación de la vía TLR7. El siguiente es un ensayo que mide su inducción en sangre entera de ratón en respuesta a un agonista de TLR7.

**[00158]** La sangre entera de ratón heparinizada se diluyó con RPMI 1640 con Pen-Strep en una proporción de 5:4 (50 uL de sangre entera y 40 uL de medio). Se transfirió un volumen de 90 uL de sangre diluida a los pozos de las placas de cultivo de tejidos de 96 pozos de fondo plano Falcon, y las placas se incubaron a 4 °C durante 1 h. Los compuestos de ensayo en DMSO al 100% se diluyeron 20 veces en el mismo medio para los ensayos de respuesta de concentración, y luego se agregaron 10 µL de los compuestos de ensayo diluidos a los pozos, de modo que la concentración final de DMSO fue del 0,5%. Los pozos de control recibieron 10 uL de medio que contenía DMSO al 5%. Luego, las placas se incubaron a 37 °C en una incubadora con 5% de CO<sub>2</sub> durante 17 h. Después de la incubación, se agregó a cada pozo 100 uL del medio de cultivo.

Las placas se centrifugaron y se retiró 130 uL de sobrenadante para usar en ensayos de producción de TNFa por ELISA (Invitrogen, número de catálogo 88-7324 de Thermo-Fisher Scientific). Se añadió un volumen de 70 uL de tampón de lisis del receptor de ARNm (1 x) con DTT del kit Invitrogen ARNm Catcher Plus (Cat#K1570-02) a la muestra restante de 70 uL en el pozo, y se mezcló pipeteando hacia abajo y hacia arriba 5 veces. Luego, la placa se agitó a temperatura ambiente durante 5-10 minutos, seguido de la adición de 2 uL de proteinasa K (20 mg/mL) a cada pozo. Las placas se agitaron durante 15-20 min a temperatura ambiente. Las placas se almacenaron a -80 °C hasta su posterior procesamiento.

**[00159]** Las muestras congeladas se descongelaron y el ARNm se extrajo utilizando el kit Invitrogen ARNm Catcher Plus (Cat # K1570-02) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se usó la mitad del rendimiento de ARNm a partir de la extracción de ARN para sintetizar ADNc en 20 µL de reacciones de transcriptasa inversa utilizando la mezcla maestra Vitrol SuperScript IV de Invitrogen (Cat# 11756500). La PCR en tiempo real TaqMan® se

realizó utilizando el sistema de PCR en tiempo real QuantStudio de ThermoFisher (Applied Biosystems). Todas las reacciones de PCR en tiempo real se ejecutaron por duplicado utilizando ensayos comerciales TaqMan prediseñados para la expresión de los genes IFIT1, IFIT3, MX1 y PPIA de ratón y la mezcla maestra TaqMan. PPIA fue utilizado como el gen de mantenimiento.

- 5 Se siguieron las recomendaciones del fabricante. Todos los datos sin procesar (Ct) se normalizaron mediante el gen de mantenimiento promedio (Ct) y luego se utilizó el método Ct (C<sub>Ct</sub>) comparativo para cuantificar la expresión génica relativa (RQ) para el análisis experimental.

## PROCEDIMIENTOS GENERALES

- 10 **[00160]** Los siguientes procedimientos generales se utilizaron para cromatografía líquida (preparativa o analítica) y resonancia magnética nuclear.

### *Cromatografía Líquida*

- [00161]** A menos que se indique lo contrario, las siguientes condiciones generales se utilizaron para la purificación por cromatografía líquida a alta presión (HPLC) o para  
15 cromatografía líquida - espectrometría de masas (LC-MS):

*Condiciones de HPLC/MS preparativas A-1:* Columna: XBridge C18, 200 mm x 19 mm, partículas de 5 µm; Fase móvil A: 5:95 acetonitrilo: agua con ácido trifluoroacético al 0.05%; Fase móvil B: 95:5 acetonitrilo: agua con ácido trifluoroacético al 0.05%; Gradiente: una retención de 0 minutos al 0% B, 0-40% B durante 20 minutos, luego se  
20 mantuvo 0 minutos a 100% B; Tasa de flujo: 20 ml/min; Temperatura de la columna: 25 °C.

*Condiciones de HPLC/MS preparativas A-2:* Columna: XBridge C18, 200 mm x 19 mm, partículas de 5 µm; Fase móvil A: acetonitrilo al 5:95: agua con acetato de amonio 10 mM; Fase móvil B: 95:5 acetonitrilo: agua con acetato de amonio 10 mM; Gradiente: una  
25 retención de 0 minutos al 7% B, 7-47% B durante 20 minutos, luego una retención de 0 minutos al 100% B; Tasa de flujo: 20 mL/min; Temperatura de columna: 25 °C.

*Condiciones de HPLC/MS preparativas A-3:* Columna: Columna OBD XBridge Shield RP18, 19x150mm, 5 µm; Fase móvil A: agua con TFA al 0,05%; Fase móvil de acetonitrilo B con 0,05% de TFA; Tasa de flujo: 18,9 mL/min; Gradiente: B al 0%  
30 durante 2 min, B al 0-35% durante 20 min, B al 100% durante 3 min; Detector, UV 254/210nm; Temperatura de Columna: 25 °C.

*Condiciones de LC/MS B:* Columna: Acquity UPLC BEH C18, 2.1 mm x 50 mm, partículas de 1.7 µm; Fase móvil A: 100% de agua con TFA al 0,05%; Fase móvil B: 100% de acetonitrilo con TFA al 0,05%; Gradiente: 2% B a 98% B durante 1 min, luego se mantuvo 0.50 min a 100% B; Fluido: 0.8 mL/min.

5      *Condiciones LC/MS C:* Columna: Waters XBridge C18, 2.1 mm x 50 mm, partículas de 1.7 µm; Fase móvil A: 5:95 acetonitrilo: agua con ácido trifluoroacético al 0.1%; Fase móvil B: 95:5 acetonitrilo: agua con ácido trifluoroacético al 0.1%; Temperatura: 50 °C; Gradiente: 0% B a 100% B durante 3 minutos, luego se mantuvo 0.50 minutos a 100% B; Fluido: 1 mL/min; Detección: MS y UV (220 nm).

10      *Condiciones de LC/MS D:* Condiciones de LC/MS: Columna: Acquity UPLC BEH C18, 2.1 mm x 50 mm, partículas de 1.7 µm; Fase móvil A: 95: 5 agua: acetonitrilo con NH<sub>4</sub>OH 10 mM; Fase móvil B: 95: 5 acetonitrilo: agua con NH<sub>4</sub>OH 10 mM; Gradiente: 5% B a 95% B durante 1 min, luego se mantuvo 0.50 min a 95% B; Fluido: 0.8 ml/min a 95% de B durante 1 min, luego 0,50 min a 95% de B; Flujo: 0.8 mL/min.

15      *Condiciones LC/MS E:* Condiciones de LC/MS: Columna: Waters XBridge C18, 2.1 mm x 50 mm, partículas de 1.7 µm; Fase móvil A: agua con 0.1% de TFA; Fase móvil B: acetonitrilo con TFA al 0,1%; Temperatura: 40 °C; Gradiente: 5% de B a 95% de B durante 2,6 min, luego 0,20 min de mantenimiento a 95% de B; Tasa de flujo: 0.6 mL/min;

## 20      *NMR*

[00162]    Se usaron las siguientes condiciones para obtener los espectros de resonancia magnética nuclear de protones (RMN): Los espectros de RMN se tomaron en un instrumento Bruker de 400 Mz o 500 Mhz utilizando DMSO-d<sub>6</sub> o CDCl<sub>3</sub> como disolvente y estándar interno. Los datos brutos de RMN se analizaron utilizando el software ACD Spectrus versión 2015-01 de  
25      ADC Labs o el software MestReNova.

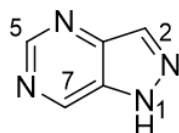
[00163]    Los desplazamientos químicos se reportan en partes por millón (ppm) campo abajo del tetrametilsilano interno (TMS) o de la posición de TMS inferida por el solvente de RMN deuterado. Las multiplicidades aparentes se reportan como: singulete-s, doblete-d, triplete-t, cuarteto-q, o multiplete-m. Los picos que exhiben ensanchamiento se denotan como br. Las  
30      integraciones son aproximadas. Debe observarse que las intensidades de integración, las formas de los picos, los cambios químicos y las constantes de acoplamiento pueden depender del

disolvente, la concentración, la temperatura, el pH y otros factores. Además, los picos que se superponen o se intercambian con agua o picos de solventes en el espectro de RMN pueden no proporcionar intensidades de integración confiables. En algunos casos, los espectros de RMN pueden obtenerse utilizando la supresión del pico de agua, lo que puede hacer que los picos superpuestos no sean visibles o tengan una forma y/o integración alteradas.

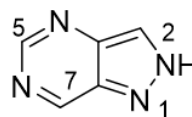
## SINTESIS

**[00164]** La práctica de esta invención puede entenderse adicionalmente por referencia a los siguientes ejemplos, que se proporcionan a modo de ilustración y no de limitación.

**[00165]** En general, los procedimientos descritos en este documento producen una mezcla de regioisómeros, alquilados en la posición 1H o 2H del sistema de anillo de pirazolopirimidina (que también se denominan regioisómeros N1 y N2, respectivamente, aludiendo al nitrógeno que se alquila). En las figuras, a veces los regioisómeros N2 no se muestran por conveniencia, pero debe entenderse que están presentes en la mezcla del producto inicial y se separan en un momento posterior, por ejemplo, por HPLC preparativa.



1H-pirazo[4,3-d]pirimidina



2H-pirazo[4,3-d]pirimidina

**[00166]** La mezcla de regioisómeros se puede separar en una etapa temprana de la síntesis y las etapas sintéticas restantes se pueden llevar a cabo con el regioisómero 1H o, alternativamente, la síntesis puede progresar llevando la mezcla de regioisómeros y la separación efectuada en una etapa posterior, según se desee.

### *Procedimiento 1 - Compuestos por FIG. 1*

**[00167]** Este procedimiento y la **FIG. 1** adjunta ilustra un método para fabricar compuestos descritos en este documento, utilizando el compuesto 800 como ejemplo.

**[00168]** *Compuesto 3.* Se trató 4-amino-1H-pirazol-5-carboxilato de metilo **2** (4 g, 28.3 mmol) y (Z)-4-(2,3-bis(metoxycarbonil)guanidino)-1H-pirazol-5-carboxilato de metilo **1** en metanol (50 ml) con ácido acético (8.11 ml, 142 mmol), momento en el cual se formó un precipitado. La mezcla de reacción se agitó durante la noche. Se añadió metóxido de sodio (64.8 ml, 283 mmol) y la agitación se continuó durante la noche. LCMS mostró la finalización de la reacción. El pH se ajustó a 5 mediante la adición lenta de ácido acético, por lo que se formó un

precipitado que se lavó con agua y luego con acetonitrilo y se secó para proporcionar 5.2 g del compuesto **3** en forma de un sólido blancuzco. LCMS ESI: calculado para  $C_7H_7N_5O_3 = 210.16$  ( $M+H^+$ ), encontró 210.0 ( $M+H^+$ ).

**[00169]** Compuesto 4. El compuesto **3** (2 g, 9.56 mmol), butan-1-amina (1.8 ml, 9 mmol) y DBU (1.6 ml, 10 mmol) en DMSO (10 ml) se trató lentamente con BOP (5 g, 11 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 60 °C durante 2 horas, momento en el cual LCMS mostró la finalización de la reacción. La reacción se purificó directamente en el aparato COMBIFLASH™ de fase inversa utilizando 80 g de columna C-18 eluyendo con 0-100% de acetonitrilo/agua (ácido fórmico al 0.1%) para producir el compuesto 4 como un sólido blanco. LCMS ESI: calculado para  $C_{11}H_{16}N_6O_2 = 265.28$  ( $M+H^+$ ), encontró 265.2 ( $M+H^+$ ).  $^1H$  RMN (400 MHz, dmso-d<sub>6</sub>)  $\delta$  8.02 (s, 1H), 3.97 (s, 3H), 1.74 – 1.66 (m, 2H), 1.49 – 1.38 (m, 2H), 1.25 (s, 1H), 0.95 (t,  $J = 7.4$  Hz, 3H).

**[00170]** Compuesto 6. Una mezcla de 4- (bromometil)-2-metoxibenzoato de metilo **5** (1 g, 3.86 mmol) y ciclobutanamina 5a (0.659 ml, 7.72 mmol) en DMF (2 ml) se calentó a 70 °C durante 30 minutos, momento en el cual se observó LCMS. La formación de un producto de amina. El exceso de base se evaporó y se agregó Base de Hunig (1.348 ml, 7.72 mmol), seguido de la adición de Boc-anhídrido (0.896 ml, 3.86 mmol). LCMS mostró la finalización de la reacción. El disolvente se evaporó y el producto crudo se purificó mediante un aparato COMBIFLASH™ utilizando EtOAc/hexanos para proporcionar 0.82 g del producto deseado **6** en forma de un aceite incoloro. LCMS ESI: calculado para  $C_{19}H_{27}NO_5 = 350.42$  ( $M+H^+$ ), encontró 350.1 ( $M+H^+$ ).

**[00171]** Compuesto 7. Una solución del compuesto **6** (0.82g, 2.347 mmol) en THF (5 ml) a 0 °C se trató lentamente con  $LiAlH_4$  (2 M en THF, 1.173 ml, 2.347 mmol) y se agitó durante 30 minutos, momento en el cual se observó LCMS. finalización de la reacción. La reacción se detuvo mediante la adición lenta de metanol y se agitó con solución de sal de Rochelle durante 2 horas. Las capas orgánicas se separaron y el producto crudo **7** se purificó en un aparato COMBIFLASH™ utilizando EtOAc/hexanos, columna de gel de sílice. LCMS ESI: calculado para  $C_{18}H_{27}NO_4 = 322.41$  ( $M+H^+$ ), encontró 322.1 ( $M+H^+$ ).

**[00172]** Compuestos **8** y **9**. Una mezcla del compuesto **4** (100 mg, 0.378 mmol), compuesto **7** (182 mg, 0.568 mmol) y trifenilfosfina (248 mg, 0.946 mmol) en THF (3 ml) se trató lentamente con DIAD (0.110 ml, 0.568 mmol) sobre 5 min y se agitó a temperatura ambiente durante 30 min bajo  $N_2$ , momento en el cual LCMS mostró la finalización de la reacción. El solvente se evaporó

y el producto crudo se purificó en un aparato COMBIFLASH™ de fase inversa utilizando 80 g de columna C-18 eluyendo con 0-100% de acetonitrilo/agua (TEAA 1 mM) para proporcionar una mezcla de los compuestos **8** y **9** como un sólido blanco. LCMS ESI: calculado para  $C_{29}H_{41}N_7O_5 = 566.69$  (M-H<sup>+</sup>), encontrado 566.3 (M-H<sup>+</sup>).

- 5 **[00173]** Los isómeros se separaron mediante cromatografía de fluidos supercríticos quirales utilizando Columna: Kromasil 5-CelluCoat, 21 x 250 mm, 5 micras, Fase móvil: 15% MeOH-DEA / 85%% CO<sub>2</sub>, Tasa de flujo: 45 mL/min, 150 bar, 40 °C, longitud de onda del detector: 230 nm, Detalles de la inyección: 0,5 ml de ~25 mg/mL en MeOH para proporcionar 17 mg del compuesto **8** y 25 mg del compuesto **9**.

10 *Datos analíticos para el compuesto 8:* <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 9.61 (s, 2H), 7.86 (s, 2H), 6.94 (s, 2H), 6.83 (s, 2H), 6.63 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H), 6.51 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 5.69 (s, 4H), 4.39 (s, 4H), 3.79 (s, 6H), 3.63 (s, 6H), 3.48 (d, *J* = 6.2 Hz, 4H), 3.33 (s, 20H), 3.18 (d, *J* = 5.3 Hz, 1H), 2.05 – 1.95 (m, 8H), 1.53 (t, *J* = 7.5 Hz, 7H), 1.35 (s, 11H), 1.23 (q, *J* = 7.2 Hz, 6H), 0.86 (t, *J* = 7.4 Hz, 6H).

15 *Datos analíticos para el compuesto 9:* <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 9.37 (s, 1H), 8.08 (s, 1H), 6.90 (s, 1H), 6.84 (s, 1H), 6.71 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 5.48 (s, 2H), 4.42 (s, 3H), 3.78 (d, *J* = 18.0 Hz, 4H), 3.69 (s, 1H), 3.61 (s, 3H), 3.51 – 3.42 (m, 3H), 2.06 – 1.97 (m, 6H), 1.61 – 1.47 (m, 6H), 1.36 (s, 8H), 1.34 – 1.26 (m, 6H), 0.99 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H), 0.94 – 0.85 (m, 4H).

- 20 **[00174]** *Compuesto 800.* Se disolvió una solución de compuesto **8** (13 mg, 0.023 mmol) en THF (0.5 mL) y se trató con TFA (0.018 mL, 0.229 mmol). LCMS en 30 min mostró desprotección Boc. El TFA se evaporó y esta mezcla se trató con hidróxido de sodio (9.16 mg, 0.229 mmol) y se calentó a 60 °C durante 2 h, momento en el cual LCMS mostró la finalización de la reacción. La base se neutralizó mediante la adición lenta de HCl 6 M y se trató con  
25 EtOAc/agua. El material crudo se purificó mediante HPLC preparativa en condiciones de HPLC/MS A-2.

**[00175]** Otros compuestos de esta descripción se pueden hacer de manera análoga, *mutatis mutandis*, usando otra amina en lugar de ciclobutanamina **5a**.

## Procedimiento 2 - Compuestos por figuras. 2A-2B

**[00176]** Este procedimiento y las Figuras acompañantes **2A-2B** ilustran otro método para fabricar compuestos descritos en el presente documento, utilizando los compuestos **801** y **818** como ejemplos.

5 **[00177]** *Compuestos 12 y 13.* Una solución de 4-nitro-1H-pirazol-5-carboxilato de metilo 10 (3.27 g, 19.11 mmol) en DMF (20 ml) se trató con K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2.90 g, 21.02 mmol) y 4-(bromometil)-3-metoxibenzoato de metilo 11 (5 g, 19.30 mmol). La reacción se inició a 0 °C y se dejó proceder durante 1 h, momento en el cual LCMS mostró la finalización de la reacción con aproximadamente 1:5 mezcla de productos. La base se filtró y la reacción se diluyó con  
10 EtOAc y se lavó con agua 2 veces. El solvente se evaporó y el producto crudo se llevó a la siguiente etapa como está. LCMS ESI: calculado para C<sub>15</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub> = 350.2 (M-H<sup>+</sup>), encontrado 350.0 (M-H<sup>+</sup>).

**[00178]** Para fines de caracterización, se separó una pequeña cantidad de la mezcla de productos utilizando cromatografía en columna de gel de sílice usando EtOAc a 0-50% /hexanos.

15 *Datos analíticos para el compuesto 12:* <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8.40 (s, 1H), 7.57 (dd, *J* = 7.8, 1.5 Hz, 1H), 7.50 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H), 7.27 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 5.53 (s, 2H), 3.96 (s, 3H), 3.84 (d, *J* = 16.2 Hz, 6H).

*Datos analíticos para el compuesto 13:* <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 9.05 (s, 1H), 7.62 – 7.51 (m, 2H), 7.28 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 5.47 (s, 2H), 3.87 (s, 8H), 3.31 (s, 1H).

20 **[00179]** *Compuestos 14 y 15.* Una solución de los compuestos **12** y **13** (2 g, 5.73 mmol), zinc y formiato de amonio se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas, después de lo cual LCMS mostró la finalización de la reacción. La filtración y la concentración produjeron una mezcla cruda de los compuestos **14** y **15**. LCMS ESI: calculado para C<sub>15</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub> = 320.3 (M+H<sup>+</sup>), encontró 320.2 (M+H<sup>+</sup>).

25 **[00180]** *Compuestos 16 y 17.* Una mezcla de los compuestos **14** y **15** (1.830 g, 5.73 mmol) y el compuesto **1** en MeOH (20 mL) se trató con ácido acético (1.640 ml, 28.7 mmol) y se agitó durante la noche. La solución se trató con metóxido de sodio (13.11 ml, 57.3 mmol) y se agitó durante la noche. LCMS mostró conversión al producto. El pH se ajustó a 5 y el precipitado resultante se lavó con agua. El residuo se secó para proporcionar una mezcla de los compuestos  
30 **16** y **17**. LCMS ESI: calculado para C<sub>17</sub>H<sub>17</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub> = 388.3 (M+H<sup>+</sup>), encontró 388.1 (M+H<sup>+</sup>).

[00181] *Compuestos 18 y 19.* Una mezcla de los compuestos 16 y 17 (1 g, 2.58 mmol) en DMSO (10 ml) se trató con butan-1-amina (0.510 ml, 5.16 mmol), DBU (0.428 ml, 2.84 mmol) seguido lentamente por BOP (1.370 g, 3.10 mmol). La reacción se calentó a 70 °C durante 2 h, momento en el cual LCMS mostró la finalización de la reacción. La reacción se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc. Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se tomaron tal como están en la siguiente etapa. LCMS ESI: calculado para C<sub>21</sub>H<sub>26</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub> = 443.4 (M+H<sup>+</sup>), encontró 443.2 (M+H<sup>+</sup>). <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 9.41 (s, 1H), 8.20 (s, 1H), 8.08 (s, 1H), 7.57 – 7.42 (m, 3H), 6.93 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 5.80 (s, 1H), 5.60 (s, 2H), 4.04 (q, *J* = 7.1 Hz, 1H), 3.95 – 3.82 (m, 10H), 3.62 (d, *J* = 6.1 Hz, 4H), 3.45 (q, *J* = 7.0 Hz, 3H), 2.68 (d, *J* = 9.9 Hz, 1H), 2.57 – 2.50 (m, 6H), 2.00 (s, 1H), 1.59 (p, *J* = 7.3 Hz, 3H), 1.54 – 1.48 (m, 1H), 1.39 – 1.26 (m, 3H), 1.18 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H), 0.86 (dt, *J* = 29.5, 7.3 Hz, 5H).

[00182] *Compuesto 818.* Una solución de los compuestos **18** y **19** (1.142 g, 2.58 mmol) en THF (2.58 ml, 5.16 mmol) a 0 °C se trató con LiAlH<sub>4</sub> (THF, 2.58 ml, 5.16 mmol) y se agitó durante 1 h, después de lo cual, LCMS mostró la finalización de la reacción. La reacción se detuvo con MeOH y se agitó con solución de sal de Rochelle durante la noche. El producto se extrajo con EtOAc y se llevó a la siguiente etapa como una mezcla de compuestos crudos que reducen el producto intermedio. LCMS ESI: calculado para C<sub>20</sub>H<sub>26</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub> = 415.4 (M+H<sup>+</sup>), encontró 415.2 (M+H<sup>+</sup>).

[00183] Una mezcla de los productos intermedios reducidos (1069 mg, 2.58 mmol) en 1,4-dioxano (10 mL) se trató con hidróxido de sodio acuoso (2.58 ml, 25.8 mmol) y se calentó a 80 °C durante 5 horas, después de lo cual, LCMS mostró formación de producto. La base se neutralizó con HCl 6 M y el solvente se evaporó. El residuo se absorbió en 5 mL de DMF y la jeringa se filtró. El solvente se evaporó para proporcionar una mezcla 3:1 de los compuestos 818 y su regioisómero **19a**.

[00184] *Compuesto 801 y 19b.* Una solución de los compuestos **818** y **19a** (420 mg, 1.178 mmol) en THF (1 ml) se trató con cloruro de tionilo (0.172 ml, 2.357 mmol) y se agitó durante 30 minutos, después de lo cual LCMS mostró la finalización de la reacción. El solvente se evaporó y el intermedio de cloruro de bencilo crudo se llevó a la siguiente etapa como está. LCMS ESI: calculado para C<sub>18</sub>H<sub>23</sub>ClN<sub>6</sub>O = 375.8 (M+H<sup>+</sup>), encontrado 375.2 (M+H<sup>+</sup>).

[00185] Una mezcla de la mezcla del producto crudo anterior (20 mg, 0.053 mmol) y tetrahidro-2H-piran-4-amina **22** (5.40 mg, 0.053 mmol) en DMF (1 mL) se calentó a 70 °C durante 1 h, después de cual LCMS mostró la finalización de la reacción. La reacción se filtró

con jeringa y los productos crudos se purificaron y se separaron mediante LC/MS preparativa con las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 200 mm x 19 mm, partículas de 5µm; Fase móvil A: 5:95 acetonitrilo: agua con ácido trifluoroacético al 0.1%; Fase móvil B: 95:5 acetonitrilo: agua con ácido trifluoroacético al 0.1%; Gradiente: una retención de 2 minutos al 6% B, 6-27% B durante 25 minutos, luego se mantuvo 2 minutos a 100% B; Tasa de flujo: 20 mL/min; Temperatura de columna: 25 C. La recolección de fracciones fue activada por señales de MS. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga.

**[00186]** Si se desea, la separación de los regioisómeros **1H** y **2H** se puede efectuar antes en el proceso sintético, por ejemplo, en la mezcla de los compuestos **12** y **13** y las etapas sintéticas realizadas solo con el regioisómero **1H**.

**[00187]** Otros compuestos de esta descripción pueden prepararse de manera análoga, *mutatis mutandis*, por ejemplo, usando otra amina en lugar de tetrahidro-2H-piran-4-amina.

### *Procedimiento 3 - Compuestos por figuras. 3A-3B*

**[00188]** Este procedimiento y las Figuras acompañantes **3A-3B** ilustran otro método para fabricar compuestos descritos en el presente documento, usando los compuestos **844**, **817** y **861** como ejemplos.

**[00189]** *Compuesto 24.* A una mezcla de compuesto **16** (400 mg, 1.033 mmol) y (S)-3-aminohexan-1-ol **23** (242 mg, 2.065 mmol) en DMSO (5 mL) se añadió DBU (0.463 ml, 3.10 mmol) seguido por la lenta adición de BOP (502 mg, 1.136 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 70 °C durante 2 horas, momento en el cual LCMS mostró la finalización de la reacción. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc y se lavó con agua. La capa orgánica se concentró para dejar un producto crudo, que se usó en la siguiente etapa.

**[00190]** El producto crudo se trató con terc-butilclorodifenilsilano (0.295 ml, 1.136 mmol) e imidazol (141 mg, 2.065 mmol) en DMF (5 mL). La mezcla de reacción se agitó durante la noche. La mezcla de reacción se diluyó con agua y se trató con EtOAc. La purificación se realizó con un aparato COMBIFLASH™ utilizando EtOAc/hexano para proporcionar el compuesto **24**. LCMS ESI: calculado para C<sub>38</sub>H<sub>48</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub>Si= 725.9 (M+H<sup>+</sup>), encontrado 725.3 (M+H<sup>+</sup>). <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 9.53 (s, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.57 – 7.50 (m, 2H), 7.50 – 7.30 (m, 7H), 7.25 – 7.14 (m, 3H), 6.31 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 6.24 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 5.78 (d, J = 17.2 Hz, 2H), 4.56 (s, 1H), 3.92 – 3.82 (m, 4H), 3.78 (s, 3H), 3.59 (s, 3H), 3.55 – 3.43 (m, 2H), 3.31 (s, 2H), 1.86 – 1.68 (m, 2H), 1.47 (q, J = 8.7, 7.9 Hz, 2H), 1.18 (t, J = 7.1 Hz, 5H), 0.91 (s, 9H).

**[00191]** *Compuesto 25.* Una solución del compuesto **24** (408 mg, 0.563 mmol) en THF (5 mL) se trató lentamente con LiAlH<sub>4</sub> (0.563 ml, 1.126 mmol) y la reacción se agitó a 0 °C durante 1 h, momento en el cual LCMS mostró la finalización de la reacción. La reacción se detuvo con MeOH y se agitó con solución de sal de Rochelle durante la noche. La extracción con EtOAc y la purificación con un aparato COMBIFLASH™, MeOH al 0-50% en gradiente de DCM proporcionaron el compuesto 25. LCMS ESI: calculado para C<sub>38</sub>H<sub>48</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub>Si: 697.9 (M+H<sup>+</sup>), encontrado 679.4 (M+H<sup>+</sup>).

**[00192]** *Compuesto 26.* Una solución del compuesto **25** (150 mg, 0,215 mmol) en THF (0.5 ml) se trató lentamente con cloruro de tionilo (0.031 ml, 0.430 mmol) y se agitó durante 1 hora. LCMS mostró la finalización de la reacción. El solvente se evaporó y el producto crudo **26** se llevó a la siguiente etapa. LCMS ESI: calculado para C<sub>38</sub>H<sub>47</sub>ClN<sub>6</sub>O<sub>4</sub>Si= 715.3 (M+H<sup>+</sup>), encontrado 715.4 (M+H<sup>+</sup>).

**[00193]** *Compuesto 844.* El compuesto 26 (15 mg) se disolvió en DMF (0.5 mL) y se trató con 1,2,3,4-tetrahidro-2,6-naftiridina **27** (5.78 mg, 0.043 mmol) y se calentó a 70 °C durante 2 horas después de cual LCMS mostró la finalización de la reacción. Una solución del producto intermedio (0.018 g, 0.022 mmol) se disolvió en dioxano (0.5 mL) y se trató con trihidruro de trietilamina (0.018 ml, 0.110 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante la noche, LCMS mostró la eliminación del grupo protector TBDPS. La neutralización a pH 7, la evaporación del solvente y la purificación en ISCO de fase inversa utilizando TEAA como modificador proporcionaron el producto intermedio desprotegido.

**[00194]** El producto intermedio desprotegido de arriba se disolvió en dioxano (0.5 ml), se trató con hidróxido de sodio (0.220 ml, 0.220 mmol) y se calentó a 80 °C durante 2 horas. LCMS mostró la finalización de la reacción. La mezcla de reacción se neutralizó a pH 7 con HCl acuoso y el solvente se evaporó. El residuo se disolvió en DMF y se filtró con jeringa y se purificó por LC/MS preparativa usando las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 200 mm x 19 mm, partículas de 5 µm; Fase móvil A: 5:95 acetonitrilo: agua con acetato de amonio 10 mM; Fase móvil B: 95: 5 acetonitrilo: agua con acetato de amonio 10 mM; Gradiente: una retención de 0 minutos al 15% B, 15-55% B durante 20 minutos, luego se mantuvo 4 minutos a 100% B; Tasa de flujo: 20 mL/min; Temperatura de columna: 25 °C. La recolección de fracciones fue activada por señales de MS. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga para producir el compuesto **844** (4.7 mg, 40% de rendimiento).

[00195] *Compuesto 817.* El compuesto **25** se trató con trihidrofluoruro de trimetilamina y luego con hidróxido de sodio, generalmente siguiendo el procedimiento anterior, para proporcionar el compuesto **817**.

[00196] **FIG. 3B** muestra una variación del esquema de la **FIG. 3A**, en la que se varían las etapas posteriores a la preparación del compuesto **26**. El esquema de la **FIG. 3B** se ilustra con referencia particular al compuesto **861**.

[00197] *Compuesto 26b.* El compuesto **26** (22 mg, 0.031 mmol) se disolvió en DMF (0.6 mL) a temperatura ambiente y se trató con DIEA (27 µl, 0.15 mmol) y 3-metoxiazetidina (**26a**) como su clorhidrato (11 mg, 0.093 mmol). Después de agitar durante 2 h a 70 °C, la mezcla de reacción se concentró al vacío para proporcionar el compuesto **26b**, que se usó sin más purificación. Condiciones de LC/MS B: LC RT: 0.88 min. LCMS (M+H) =766.9.

[00198] *Compuesto 861.* Una solución del compuesto **26a** (24 mg, 0.031 mmol) en dioxano (0,3 ml) a temperatura ambiente se trató con NaOH (solución acuosa 10 M, 0,1 ml, 1.0 mmol) y la reacción se calentó a 70 °C durante 60 minutos. antes de la adición de otra porción de NaOH (solución acuosa 10 M, 0.1 ml, 1.0 mmol). Después de 2 horas, la mezcla de reacción se concentró al vacío. El residuo se trató con MeOH (0.3 mL) y HCl (solución acuosa al 37%, 0.3 ml, 3.7 mmol), se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos y se concentró. El producto crudo se disolvió en DMF, se filtró a través de una frita de PTFE y se purificó mediante condiciones de HPLC preparativas A-1. La recolección de fracciones fue activada por señales de MS. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga para proporcionar el compuesto **861** en forma de su sal TFA (8,4 mg, 46%). Condiciones de LC/MS C: LC RT: 0.82 min. LCMS (M+H) =470.3.

[00199] Otros compuestos de esta descripción pueden prepararse de forma análoga, *mutatis mutandis*, por ejemplo, utilizando aminas distintas de las mostradas en las **Figs. 3A-3B**.

#### *Procedimiento 4 - Compuestos por figuras. 4A-4B*

[00200] Este procedimiento y las Figuras acompañantes **4A-4B** ilustran otro método para preparar compuestos descritos en el presente documento.

[00201] *Compuesto 30.* Una suspensión del compuesto **4** (400 mg, 1.513 mmol) en dioxano (5 ml) se trató con hidróxido de sodio (10 N en agua, 1.513 ml, 15.13 mmol) y se agitó a 60 °C durante 45 minutos. La mezcla de reacción se concentró. El producto crudo se disolvió en agua y se purificó por cromatografía de fase inversa en una unidad COMBIFLASH™ usando una

columna C-18 de 150 g eluyendo con TEAA 10 mM en acetonitrilo: 10 mM en agua, gradiente 0-70%. Las fracciones deseadas se congelaron y se liofilizaron para proporcionar el compuesto 30 (150 mg, 0.727 mmol, 48.1% de rendimiento). LCMS ESI: calculado para  $C_9H_{15}N_6$  = 207.1 ( $M+H^+$ ), encontrado 207.2 ( $M+H^+$ ).  $^1H$  RMN (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7.56 (br s, 1H), 5.53 (br s, 2H), 3.43 (br d,  $J=6.2$  Hz, 2H), 1.57 (t,  $J=7.2$  Hz, 2H), 1.44 - 1.29 (m, 2H), 0.95 - 0.76 (m, 3H).

**[00202]** *Compuesto 33.* Una suspensión de 6-fluoronicotinaldehído 31 (1.809 g, 14.46 mmol), 4-hidroxibenzoato de metilo 32 (2 g, 13.15 mmol) y  $K_2CO_3$  (1.998 g, 14.46 mmol) en DMF (26.3 ml) se agitó a 110 °C durante 4 horas. LCMS indicó que la reacción se completo. Al enfriar, la reacción se apagó con agua. El sólido resultante se recolectó mediante filtración y se enjuagó con agua y se secó al vacío para producir el compuesto 33 (3.30 g, 12.84 mmol, 95.1% de rendimiento). LCMS ESI: calculado para  $C_{14}H_{11}NO_4$  = 258.1 ( $M+H^+$ ), encontrado 258.0 ( $M+H^+$ ).  $^1H$  RMN (400 MHz, CLOROFORMO- $d$ )  $\delta$  10.01 (s, 1H), 8.63 (d,  $J=2.4$  Hz, 1H), 8.23 (dd,  $J=8.6, 2.4$  Hz, 1H), 8.17 - 7.97 (m, 2H), 7.27 - 7.22 (m, 2H), 7.10 (d,  $J=8.6$  Hz, 1H), 3.93 (s, 3H).

**[00203]** *Compuesto 34.* Una solución del compuesto 33 (3.76 g, 14.62 mmol) en MeOH (100 ml) se trató con  $NaBH_4$  (0.553 g, 14.62 mmol) en porciones a 0 °C y luego se agitó durante 10 minutos con enfriamiento continuo. LCMS indicó que la reacción se había completado. La reacción se detuvo agregando lentamente la mitad de  $NH_4Cl$  saturado. Se continuó la agitación durante 30 min a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se extrajo con acetato de etilo. Los extractos orgánicos se secaron sobre  $Na_2SO_4$ , se filtraron y se concentraron. El sólido crudo se suspendió en agua y se recolectó por filtración y se secó al vacío para producir el compuesto 34 (3.37 g, 13.00 mmol, 89% de rendimiento). LCMS ESI: calculado para  $C_{14}H_{13}NO_4$  = 260.1 ( $M+H^+$ ), encontrado 260.0 ( $M+H^+$ ).  $^1H$  RMN (400 MHz, CLOROFORMO- $d$ )  $\delta$  8.21 (d,  $J=2.2$  Hz, 1H), 8.12 - 8.04 (m, 2H), 7.81 (dd,  $J=8.4, 2.4$  Hz, 1H), 7.21 - 7.13 (m, 2H), 6.99 (d,  $J=8.4$  Hz, 1H), 4.71 (s, 2H), 3.91 (s, 3H).

**[00204]** *Compuesto 35.* El compuesto 34 (7.9 g, 30.5 mmol) en DCM (75 mL) se trató con  $MsCl$  (2.61 ml, 33.5 mmol) a 0 °C. Después de agitar a temperatura ambiente durante 16 horas, la reacción se realizó. La reacción se inactivó con agua. Después de la extracción con DCM (3 x 20 mL), los extractos orgánicos combinados se secaron sobre  $Na_2SO_4$ , se filtraron y se concentraron. El producto crudo se purificó en una columna de sílice ISCO (80 g), eluyendo con acetato de etilo: hexanos, gradiente 0-70%. Las fracciones deseadas se concentraron para

producir el compuesto **35** (7.47 g, 26.9 mmol, rendimiento del 88%). LCMS ESI: calculado para  $C_{14}H_{13}ClNO_3 = 278.1$  ( $M+H^+$ ), encontrado 278.0( $M+H^+$ ).  $^1H$  RMN (400 MHz, CLOROFORMO- $d$ )  $\delta$  8.19 (d,  $J=2.2$  Hz, 1H), 8.13 - 8.02 (m, 2H), 7.79 (dd,  $J=8.5, 2.5$  Hz, 1H), 7.22 - 7.14 (m, 2H), 6.99 (d,  $J=8.6$  Hz, 1H), 4.57 (s, 2H), 3.92 (s, 3H).

5 **[00205]** *Compuestos 36 y 37.* El compuesto **30** (70 mg, 0.339 mmol) en DMF (1 mL) se trató con carbonato de cesio (332 mg, 1.018 mmol), seguido del compuesto **35** (94 mg, 0.339 mmol). Después de agitar durante 5 horas a temperatura ambiente, la reacción se completó. Después de enfriar con agua y extraer con acetato de etilo (3 x 10 ml), los extractos orgánicos combinados se secaron sobre  $Na_2SO_4$ , se filtraron y se concentraron. El producto crudo se purificó en una  
10 columna de sílice ISCO (24 g), se eluyó con MeOH al 20% en DCM: DCM, 0 -60% gradiente. Las fracciones deseadas se concentraron para producir una mezcla de los compuestos **36** y **37** (120 mg, 0.080 mmol, 79% de rendimiento), en una proporción de 1:4. LCMS ESI: calculado para  $C_{23}H_{26}N_7O_3 = 448.2$  ( $M+H^+$ ), encontró 448.3 ( $M+H^+$ ).

**[00206]** *Compuestos 37a y 37b.* Una mezcla de los compuestos **36** y **37** (60 mg, 0.114 mmol)  
15 en THF (2 ml) se trató con  $LiAlH_4$  (1.0 M en THF, 0.22 ml, 0.22 mmol) lentamente a 0 °C bajo  $N_2$ . La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 1 h, momento en el cual LCMS mostró la finalización de la reacción. La reacción se detuvo mediante la adición de  $Na_2SO_4 \cdot 10 H_2O$  lentamente, seguido de MeOH y agitando a temperatura ambiente durante 3 horas. El sólido se filtró. El filtrado se concentró. El residuo se disolvió en DMF y los productos se purificaron  
20 mediante LC/MS preparativa con las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 200 mm x 19 mm, partículas de 5  $\mu m$ ; Fase móvil A: 5:95 acetonitrilo: agua con ácido trifluoroacético al 0.1%; Fase móvil B: 95:5 acetonitrilo: agua con ácido trifluoroacético al 0.1%; Gradiente: una retención de 0 minutos al 10% B, 10-45% B durante 20 minutos, luego se mantuvo 4 minutos a 100% B; Tasa de flujo: 20mL/min. La recolección de fracciones fue activada por señales de MS  
25 y UV. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga.

**[00207]** *Compuestos 38a y 38b.* Una mezcla de compuesto **37a** y compuesto **37b** (40 mg, 0.095 mmol) en THF (1 mL) se trató con cloruro de tionilo (0.14 mL, 1.9 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 3 horas, LCMS mostró la finalización de la reacción. El  
30 solvente se evaporó y el exceso de cloruro de tionilo se eliminó azeotrópicamente con DCM. El material de cloruro crudo se llevó directamente al siguiente paso sin purificación adicional. LCMS ESI: calculado para  $C_{22}H_{25}N_7O = 438.2$  ( $M+H^+$ ), encontrado 438.1 ( $M+H^+$ ).

[00208] Una mezcla de los cloruros anteriores (40 mg, 0.091 mmol) del párrafo anterior se disolvió en DMF (1.0 mL) y se trató con 2-aminoetan-1-ol (55.0 µl, 0.91 mmol), seguido de agitación a temperatura ambiente durante 16 horas. LCMS mostró la finalización de la reacción. La mezcla se purificó mediante LC/MS preparativa con las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 200 mm x 19 mm, partículas de 5 µm; Fase móvil A: acetonitrilo al 5:95: agua con acetato de amonio 10 mM; Fase móvil B: 95: 5 acetonitrilo: agua con acetato de amonio 10 mM; Gradiente: una retención de 0 minutos al 8% B, 8-48% B durante 25 minutos, luego una retención de 4 minutos al 100% B; Tasa de flujo: 20 mL/min; Temperatura de columna: 25 °C. La recolección de fracciones fue activada por señales de MS. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga.

[00209] Reemplazo del 6-fluoronicotinaldehído **31** con 4-fluoro-2-metoxibenzaldehído en el esquema de las **FIGs. 4A-4B** y generalmente siguiendo los procedimientos anteriores, los otros compuestos de esta descripción se pueden preparar, por ejemplo: **802, 803, 808, 809, y 810**.

#### *Procedimiento 5 - Compuestos por FIG. 5*

[00210] Este procedimiento y la **FIG. 5** adjunta se refiere a la síntesis de (S)-N-(3-aminohexil)acetamida **54**, que se puede usar como un intermedio para la síntesis de compuestos descritos en el presente documento.

[00211] *Compuesto 51*. Una solución de (S)-3-aminohexan-1-ol **50** (1 g, 8.53 mmol) en DCM (10 ml) se trató con base de Hunig (4.47 ml, 25.6 mmol) y Boc-anhídrido (2,377 ml, 10,24 mmol) y se agitó durante 3 horas, después de lo cual, LCMS mostró la finalización de la reacción. El solvente y la base se eliminaron al vacío. El producto crudo se purificó en una máquina ISCO con detector de N<sub>2</sub> usando 80 g de columna de oro y gel de sílice usando 0-100% EtOAc/hexanos para proporcionar fracciones con el producto deseado, que se combinaron y se concentraron para proporcionar el compuesto **51** (1.05 g, 56.6 % rendimiento). LCMS ESI: calculado para C<sub>11</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>3</sub> = 218.3 (M+H<sup>+</sup>), encontrado 218.2 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, Cloroformo-*d*) δ 3.76 (s, 1H), 3.63 (dd, *J* = 7.6, 3.0 Hz, 2H), 1.90 – 1.77 (m, 1H), 1.46 – 1.44 (m, 10H), 1.44 – 1.17 (m, 4H), 1.00 – 0.81 (m, 5H).

[00212] *Compuesto 52*. A una solución de compuesto **51** (1050 mg, 4.83 mmol), trifenilfosfina (1648 mg, 6,28 mmol) e isoindolina-1,3-diona (924 mg, 6.28 mmol) en THF (10 mL) se añadió lentamente DIAD (1,221 mL, 6.28 mmol). Después de agitar durante la noche a temperatura ambiente, LCMS mostró la finalización de la reacción. Eliminar el solvente en un

evaporador rotatorio y purificar en una máquina ISCO usando una columna gold de 80 g de columna eluyendo con 0-50% EtOAc/hexanos proporcionaron fracciones con el producto desaseado, que se concentraron para proporcionar el compuesto **52** (1.6 g, 96% de rendimiento) como un sólido amarillo pálido. LCMS ESI: calculado para  $C_{19}H_{26}NO_4 = 347.4$  ( $M+H^+$ ),  
5 encontrado 247.2 ( $M-Boc+H^+$ ).  $\delta$  7.83 (dd,  $J = 5.4, 3.1$  Hz, 2H), 7.70 (dd,  $J = 5.5, 3.0$  Hz, 2H), 4.40 (s, 1H), 3.75 (dd,  $J = 8.4, 7.0$  Hz, 2H), 3.64 (s, 1H), 1.69 (dq,  $J = 15.8, 7.9$  Hz, 1H), 1.52 – 1.44 (m, 2H), 1.42 (s, 9H), 1.39 – 1.28 (m, 3H), 0.91 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H).

**[00213]** *Compuesto 53.* El compuesto **52** (1.6 g, 4.62 mmol) se trató con metilamina en MeOH (15.59 g, 92 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 1 hora, después de lo cual  
10 LCMS mostró desprotección de ftalimida. El solvente y la base se evaporaron y el residuo se disolvió en THF (5 ml) y se trató con base de Hunig (1.613 ml, 9.24 mmol), seguido de cloruro de acetilo (0.394 ml, 5.54 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente y el disolvente se evaporó. El producto crudo se purificó en ISCO de fase inversa utilizando 80 g de columna C-18 eluyendo con acetonitrilo al 0-95% en agua (ácido fórmico al  
15 0.05%) para proporcionar fracciones con el producto deseado, que se liofilizaron para proporcionar el compuesto **53** en forma de una pasta de color amarillo pálido (0,8 g). LCMS ESI: calculado para  $C_{13}H_{26}N_2O_3 = 259.3$  ( $M+H^+$ ), encontrado 159.1 ( $M-Boc+H^+$ ).  $\delta$  6.65 (s, 2H), 4.30 (d,  $J = 9.4$  Hz, 2H), 3.75 – 3.67 (m, 2H), 3.60 (s, 2H), 2.84 (t,  $J = 12.7$  Hz, 2H), 2.00 (s, 3H), 1.75 (dddd,  $J = 14.1, 10.7, 5.3, 3.6$  Hz, 1H), 1.44 – 1.24 (m, 9H), 0.91 (t,  $J = 6.8$  Hz, 3H).

**[00214]** *Compuesto 54.* El compuesto **53** (0.8 g, 3.10 mmol) se trató con TFA (4.7 ml, 61.9 mmol). LCMS después de 30 minutos muestra la finalización de la reacción. TFA se evaporó. El residuo se secó en un liofilizador durante la noche para proporcionar el compuesto **54** (322 mg, 65,7% de rendimiento) en forma de una pasta de color amarillo pálido. LCMS ESI: calculado para  $C_8H_{18}N_2O = 159.2$  ( $M+H^+$ ), encontrado 159.1 ( $M+H^+$ ).  $\delta$  8.08 (s, 2H), 6.71 (s, 1H), 3.49 (s,  
25 1H), 3.38 – 3.32 (m, 2H), 3.30 (s, 1H), 3.18 (d,  $J = 9.7$  Hz, 1H), 2.04 (s, 3H), 1.96 – 1.83 (m, 2H), 1.67 (ddq,  $J = 36.7, 14.4, 7.5, 7.0$  Hz, 1H), 1.40 (dq,  $J = 15.6, 7.7$  Hz, 1H), 0.94 (t,  $J = 7.3$  Hz, 3H).

**[00215]** El compuesto **54** se puede usar para hacer compuestos tales como **846** y **847**, generalmente siguiendo el Procedimiento 3 y las **FIGs. 3A-3B**, utilizando el compuesto **16**.

*Procedimiento 6 - Compuestos por figuras. 6a-6B*

**[00216]** Este procedimiento y las Figuras acompañantes **6A-6B** ilustran otro método para fabricar compuestos descritos en el presente documento, utilizando el compuesto **857** como ejemplo.

5 **[00217]** *Compuesto 55.* A una suspensión del compuesto **30** (1.50 g, 7.27 mmol) en DMF (25 ml) se añadió NBS (1.29 g, 7.27 mmol) en tres porciones (el color cambió de rojo a amarillo claro). Después de 10 minutos de agitación a temperatura ambiente, LCMS indicó que la reacción se había completado. La mezcla se vertió en una pequeña porción de hielo y se agitó durante 16 horas. El sólido resultante se recolectó por filtración y se secó en alto vacío para  
10 producir el compuesto **55** (1.96 g, 6.9 mmol, 95% de rendimiento).

**[00218]** *Compuesto 57.* Una suspensión de 4-fluoro-2-metoxibenzaldehído **56** (1.5 g, 9.73 mmol), 4-hidroxibenzoato de metilo **32** (1.777 g, 11.68 mmol) y  $K_2CO_3$  (2.69 g, 19.46 mmol) en DMF (19.46 ml) se agitó a 105°C. °C durante tres días, LCMS indicó que la reacción se había completado. Se apagó con agua. El precipitado resultante de un sólido de color cremoso se  
15 recolectó por filtración y se secó al vacío para proporcionar el compuesto **57** (2.6 g, 9.08 mmol, rendimiento del 93%). LCMS ESI: calculado para  $C_{16}H_{15}O_5$  = 287.1 ( $M+H^+$ ), encontrado 287.1 ( $M+H^+-18$ ).

**[00219]** *Compuesto 58.* A una suspensión agitada del compuesto **57** (2.6 g, 9.08 mmol) en MeOH (25 ml) se añadió  $NaBH_4$  (0.344 g, 9.08 mmol) en porciones. La mezcla de reacción se  
20 volvió clara. Después de 1 h, la reacción se completó. La mezcla de reacción se concentró a medio volumen. Se añadió agua, seguido de agitación durante 30 min. El sólido resultante se recolectó por filtración y se secó al aire para producir el compuesto **58** (2.50 g, 8.67 mmol, 95% de rendimiento) en forma de un sólido blanco, que era lo suficientemente puro como para usarlo en la siguiente etapa. LCMS ESI: calculado para  $C_{16}H_{17}O_5$  = 289.1 ( $M+H^+$ ), encontrado 271.1  
25 ( $M+H^+-18$ ).

**[00220]** *Compuesto 59.* El compuesto **58** (730 mg, 2,53 mmol) en THF (10 ml) se trató con agitación, con  $SOCl_2$  (0.924 ml, 12.66 mmol). La agitación se continuó a temperatura ambiente durante 16 horas. La concentración en un evaporador rotatorio produjo el compuesto **59**. El  $SOCl_2$  extra se eliminó azetrópicamente con DCM (3X). El sólido resultante fue lo  
30 suficientemente puro como para llevarlo al siguiente paso sin purificación adicional.  $^1H$  RMN

(400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  8.07 - 7.83 (m, 2H), 7.46 (d, J=8.1 Hz, 1H), 7.16 - 7.01 (m, 2H), 6.87 (d, J=2.2 Hz, 1H), 6.66 (dd, J=8.3, 2.3 Hz, 1H), 4.73 (s, 2H), 3.84 (d, J=5.3 Hz, 6H).

**[00221]** *Compuesto 60.* A una mezcla agitada del compuesto **55** (300 mg, 1.052 mmol) en DMF (1 mL) se agregó el compuesto **59** (323 mg, 1.052 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 3 horas no se detectó material de partida **59**. La mezcla de reacción se inactivó con salmuera, se extrajo con DCM (3x20 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se filtraron. El filtrado se concentró. La mezcla cruda se purificó mediante una columna de sílice ISCO (40 g), eluyendo con EtOAc/hexanos = 0-100%. Las fracciones deseadas se concentraron para producir el compuesto **60** (166 mg, 0.299 mmol, 28,4% de rendimiento).

LCMS ESI: calculado para C<sub>22</sub>H<sub>28</sub>BrN<sub>6</sub>O<sub>4</sub> = 555.1, 557.1 (M+H<sup>+</sup>), encontrado 555.2, 557.2 (M+H<sup>+</sup>). <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  7.96 (d, J=8.8 Hz, 2H), 7.55 - 7.55 (m, 1H), 7.12 - 6.98 (m, 2H), 6.87 (d, J=2.2 Hz, 1H), 6.76 (t, J=5.4 Hz, 1H), 6.71 (d, J=8.1 Hz, 1H), 6.62 (dd, J=8.3, 2.3 Hz, 1H), 5.97 (s, 2H), 5.62 (s, 2H), 3.83 (s, 3H), 3.79 (s, 3H), 3.50 - 3.39 (m, 2H), 1.59 - 1.46 (m, 2H), 1.31 - 1.21 (m, 2H), 0.87 (t, J=7.4 Hz, 3H).

**[00222]** *Compuesto 61.* A una mezcla agitada del compuesto **60** (160 mg, 0.288 mmol) en THF (10 ml) se añadió LiAlH<sub>4</sub> (2.5M en THF) (10.93 mg, 0.288 mmol) bajo nitrógeno a temperatura ambiente. Después de 10 minutos, LCMS indicó que la reacción se había completado. La mezcla de reacción se inactivó cuidadosamente con solución de sal de Rochelle y se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas. La capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo adicionalmente con acetato de etilo (2 x 50 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se filtraron. El filtrado se concentró para proporcionar el compuesto **61** (140 mg, 0.265 mmol, 92.2% de rendimiento). LCMS ESI: calculado para C<sub>24</sub>H<sub>28</sub>BrN<sub>6</sub>O<sub>3</sub> = 527.1, 529.1 (M+H<sup>+</sup>), encontrado 527.2, 529.2 (M+H<sup>+</sup>). <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  7.32 (d, J=8.6 Hz, 2H), 6.96 (d, J=8.6 Hz, 2H), 6.77 - 6.65 (m, 3H), 6.43 (dd, J=8.3, 2.3 Hz, 1H), 5.95 (s, 2H), 5.57 (s, 2H), 5.15 (t, J=5.6 Hz, 1H), 4.47 (d, J=5.7 Hz, 2H), 3.76 (s, 3H), 3.45 (br d, J=5.7 Hz, 2H), 1.53 (t, J=7.2 Hz, 2H), 1.31 - 1.20 (m, 2H), 0.88 (t, J=7.4 Hz, 3H).

**[00223]** *Compuesto 62.* Una suspensión del compuesto **61** (165 mg, 0.313 mmol) en MeOH (10 ml) y acetato de etilo (3 mL) se purgó con N<sub>2</sub>. Se añadió Pd-C al 5% (40 mg, 0,019 mmol), se purgó con H<sub>2</sub> y se agitó bajo un balón de H<sub>2</sub> durante 18 horas. Luego se eliminó el catalizador mediante filtración a través de una almohadilla CELITE®. El filtrado se concentró para producir el compuesto **62** (157 mg, 0.350 mmol, rendimiento del 112%). LCMS ESI: calculado para C<sub>24</sub>H<sub>29</sub>N<sub>6</sub>O<sub>3</sub> = 449.2 (M+H<sup>+</sup>), encontró 449.3 (M+H<sup>+</sup>). <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  8.13

(br d, J=4.0 Hz, 1H), 7.75 (s, 1H), 7.61 (br s, 2H), 7.33 (d, J=8.6 Hz, 2H), 6.97 (d, J=8.6 Hz, 2H), 6.83 (d, J=8.6 Hz, 1H), 6.74 (d, J=2.2 Hz, 1H), 6.42 (dd, J=8.3, 2.3 Hz, 1H), 5.68 (s, 2H), 5.26 - 5.03 (m, 1H), 4.48 (d, J=5.3 Hz, 2H), 3.73 (s, 3H), 3.58 (br d, J=6.2 Hz, 2H), 1.59 (br t, J=7.3 Hz, 2H), 1.35 - 1.18 (m, 2H), 0.90 (t, J=7.4 Hz, 3H).

5 **[00224]** *Compuesto 857.* Una suspensión del compuesto 62 (100 mg, 0.223 mmol) en THF (4 ml) se trató con SOCl<sub>2</sub> (0.081 ml, 1.115 mmol), seguido de agitación a temperatura ambiente durante 1 hora. Luego la mezcla de reacción se concentró en un evaporador rotatorio. El exceso de SOCl<sub>2</sub> se eliminó azeotrópicamente con DCM (3x), el sólido resultante fue lo suficientemente puro para usarlo en el siguiente paso. LCMS ESI: calculado para C<sub>24</sub>H<sub>28</sub>ClN<sub>6</sub>O<sub>2</sub> = 467.2 (M+H<sup>+</sup>),  
10 encontrado 467.2 (M+H<sup>+</sup>). El sólido resultante (20 mg, 0.043 mmol) se disolvió en DMF (0.5 mL). Se añadió 1-amino-2-metilpropan-2-ol (19.09 mg, 0.214 mmol) a la mezcla de reacción y la solución se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. La mezcla de reacción se filtró con jeringa y el material crudo se purificó mediante LC/MS preparativa con las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 200 mm x 19 mm, partículas de 5 µm; Fase móvil A: 5:95  
15 acetonitrilo: agua con ácido trifluoroacético al 0.1%; Fase móvil B: 95:5 acetonitrilo: agua con ácido trifluoroacético al 0.1%; Gradiente: una retención de 0 minutos al 19% B, 19-59% B durante 20 minutos, luego una retención de 0 minutos al 100% B; Tasa de flujo: 20 mL/min; Temperatura de la columna: 25 C. La recolección de fracciones fue activada por MS y señales UV. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante  
20 evaporación centrífuga para producir el compuesto **857** en forma de una sal de TFA (6.9 mg, 10.63 µmol, 24.81% de rendimiento).

**[00225]** Este Procedimiento 6 y el Procedimiento anterior 4 se pueden usar para hacer compuestos similares. Hemos observado que la alquilación del compuesto 3-bromo **55** produce una mayor proporción del regioisómero 1H (el regioisómero 2H no se muestra en la **FIG. 6A**)  
25 que la alquilación del compuesto contraparte 36 en el Procedimiento 4. Por lo tanto, cuando el regioisómero 1H es el más deseado, este Procedimiento 6 puede ser el preferible, a pesar de que conlleva los pasos adicionales de bromación y desbromación. La Tabla B a continuación enumera algunos compuestos que se hicieron mediante el Procedimiento 4 o 6. Además, el compuesto de 3-bromo **55** puede ser un intermediario en otras rutas sintéticas, como se muestra  
30 en los Procedimientos a continuación.

## Procedimiento 7 - Compuestos por FIG. 7

**[00226]** Este procedimiento y La Figura acompañante. 7 ilustran otro método para hacer compuestos descritos en el presente documento, utilizando el compuesto **864** como un ejemplo.

**[00227]** *Compuesto 64.* Una solución del compuesto **16** (48.5 mg, 0.125 mmol) en THF (1.8 ml) se enfrió a 0 °C y se trató con LiAlH<sub>4</sub> (1M en THF, 219 µL, 0.219 mmol). Después de 10 minutos, se agregó una porción adicional de LiAlH<sub>4</sub> (1M en THF, 200 µl, 0.200 mmol) y la reacción se agitó durante otros 20 minutos a 0 °C. La mezcla de reacción se inactivó con MeOH y sal de Rochelle (solución acuosa saturada) y se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. La mezcla se extrajo con EtOAc (3x). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con H<sub>2</sub>O, se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron y se concentraron al vacío para proporcionar el compuesto **64** (38 mg, 84%). <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 11.60 - 11.12 (m, 2H), 7.85 - 7.83 (m, 1H), 6.97 (s, 1H), 6.77 (d, J=8.0 Hz, 1H), 6.59 (d, J=7.7 Hz, 1H), 5.66 (s, 2H), 5.15 (t, J=5.7 Hz, 1H), 4.44 (d, J=5.6 Hz, 2H), 3.79 (s, 3H), 3.74 (s, 3H). Condiciones de LC/MS B: LC RT: 0.61 min. LCMS (M+H) =360.1.

**[00228]** *Compuesto 65.* Una solución del compuesto **64** (402 mg, 1.12 mmol) en DCM (15 ml) se trató con cloruro de tionilo (1.6 ml, 22 mmol). Después de 15 min, la mezcla de reacción se concentró al vacío. El residuo se volvió a disolver en DCM y se concentró al vacío nuevamente para proporcionar el compuesto **65** (422 mg, 100%). <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 11.25 - 11.02 (m, 1H), 7.89 - 7.88 (m, 1H), 7.11 (d, J=1.5 Hz, 1H), 6.92 (dd, J=7.8, 1.5 Hz, 1H), 6.62 (d, J=7.7 Hz, 1H), 5.69 (s, 2H), 4.72 (s, 2H), 3.82 (s, 3H), 3.75 (s, 3H). Un protón no fue visible, probablemente debido a la superposición con el pico de agua o el intercambio de protones. Condiciones de LC/MS B: LC RT: 0.80 min. LCMS (M+H) =378.0.

**[00229]** *Compuesto 66.* Una solución de ciclobutanamina **5a** (0.84 ml, 9.9 mmol) en THF (11 ml) se trató en una solución del compuesto **65** (249 mg, 0.659 mmol) en THF (8 mL). La mezcla de reacción se agitó durante 16 horas a 60 °C y luego se concentró *al vacío*. El residuo se disolvió en DCM/MeOH, se absorbió en CELITE® y se purificó mediante cromatografía en columna (columna gold C18 de 50 g; fase móvil A: 10:90 metanol:agua con ácido trifluoroacético al 0.1%; Fase móvil B: 90:10 metanol:agua con ácido trifluoroacético al 0.1%; Tasa de flujo: 40 mL/min) para proporcionar el compuesto **66** como su sal de TFA (168 mg, 48% de rendimiento). <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 11.55 (br s, 1H), 11.18 - 11.12 (m, 1H), 9.04 - 8.93 (m, 2H), 7.91 - 7.89 (m, 1H), 7.19 (d, J=1.4 Hz, 1H), 6.95 (dd, J=7.7, 1.3 Hz, 1H), 6.68 (d, J=7.7 Hz, 1H), 5.71 (s, 2H), 4.02 - 3.97 (m, 2H), 3.85 (s, 3H), 3.76 (s, 3H), 3.72 - 3.63 (m, 1H),

2.20 - 2.10 (m, 4H), 1.85 - 1.72 (m, 2H). Condiciones de LC/MS B: LC RT: 0.63 min. LCMS (M+H) =413.3.

[00230] **Compuesto 864.** Una solución del compuesto **66** (15 mg, 0.036 mmol) en DMF (1 mL) se trató con BOP (161 mg, 0.364 mmol), 2-etoxietan-1-amina **6a** (32.4 mg, 0.364 mmol) y DBU (73 µL, 0.49 mmol) y se agitó a temperatura ambiente durante 18 h. La mezcla de reacción se concentró bajo una corriente de nitrógeno. Una solución del producto crudo **67** en dioxano (0.5 mL) se trató con NaOH (solución acuosa 10 M, 0.05 mL, 0.5 mmol) y se calentó a 75 °C. Después de 1 h, la mezcla de reacción se neutralizó con HOAc (0.03 mL, 0.5 mmol) y se concentró en una corriente de nitrógeno. El residuo se disolvió en DMF, se filtró a través de una frita de PTFE y el material crudo se purificó mediante LC/MS preparativa con las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 200 mm x 19 mm, partículas de 5 µm; Fase móvil A: 5:95 acetonitrilo:agua con acetato de amonio 10 mM; Fase móvil B: 95:5 acetonitrilo: agua con acetato de amonio 10 mM; Gradiente: una retención de 0 minutos al 3% B, 3-43% B durante 25 minutos, luego una retención de 0 minutos al 100% B; Tasa de flujo: 20 mL/min; Temperatura de columna: 25 °C. La recolección de fracciones fue activada por señales de MS. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga para proporcionar el compuesto 864 (7.3 mg, 48% de rendimiento). Condiciones LC/MS C. LC RT: 0.8 min. LCMS (M+H) =426.17.

[00231] Compuestos adicionales de acuerdo con esta descripción se pueden hacer siguiendo este Procedimiento, *mutatis mutandis*.

#### *Procedimiento 8 - Compuestos por FIG. 8*

[00232] Este procedimiento y La Figura acompañante. 8 ilustran otro método para hacer compuestos descritos en el presente documento, utilizando el compuesto **866** como un ejemplo.

[00233] **Compuesto 70.** Una solución del compuesto **68** (307 mg, 0.922 mmol) en acetonitrilo (0.9 ml) se trató con el compuesto **69** (321 mg, 1.01 mmol) y se agitó a temperatura ambiente durante 72 horas. La mezcla de reacción se calentó luego a 60 °C durante 4 horas, se volvió a enfriar a temperatura ambiente y se filtró. El sólido recolectado se enjuagó con acetonitrilo y se secó *al vacío*. El filtrado se concentró al vacío y el residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO<sub>2</sub> de 12 g, 0% a 30% EtOAc-hexano, elución en gradiente) para proporcionar un sólido blanco, que se combinó con el sólido aislado por filtración para

proporcionar el compuesto **70** (392 mg, 74%). Condiciones de LC/MS B: LC RT: 1.21 min. LCMS (M+H) =576.9.

**[00234]** *Compuesto 71.* Una solución del compuesto **70** (144 mg, 0.251 mmol) en MeOH (1.2 mL) se trató con NaOMe (81 mg, 1.5 mmol) y se agitó a temperatura ambiente. Después de 96 horas, la mezcla de reacción se diluyó con H<sub>2</sub>O y se extrajo con EtOAc (3X). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron y se concentraron al vacío para proporcionar el compuesto **71** (108 mg, 100% de rendimiento). <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 11.62 - 11.59 (m, 1H), 10.85 - 10.82 (m, 1H), 7.91 (s, 1H), 7.51 (d, J=1.4 Hz, 1H), 7.47 (dd, J=7.9, 1.4 Hz, 1H), 6.69 (d, J=7.9 Hz, 1H), 5.75 (s, 2H), 3.89 (s, 3H), 3.84 (s, 3H), 1.50 (s, 9H). Condiciones de LC/MS B: LC RT: 0.89 min. LCMS (M+H) =430.6.

**[00235]** *Compuesto 72.* Una solución del compuesto **71** (294 mg, 0.685 mmol) en DMSO (3.4 ml) se trató con clorhidrato de (S)-1-((terc-butildifenilsilil)oxi)hexan-3-amina (**71a**) (322 mg, 0.822 mmol), BOP (364 mg, 0.822 mmol) y DBU (516 µL, 3.43 mmol) y se agitó a temperatura ambiente. Después de 3 horas, la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc y se lavó con H<sub>2</sub>O. La capa orgánica se concentró al vacío y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna (SiO<sub>2</sub> de 24 g; 0 a 25% EtOAc-DCM elución en gradiente) para proporcionar el compuesto **72** (227.8 mg, 43%). <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 9.00 - 8.93 (m, 1H), 7.92 (s, 1H), 7.53 (dd, J=8.0, 1.4 Hz, 2H), 7.46 (s, 2H), 7.44 (d, J=1.3 Hz, 1H), 7.42 - 7.37 (m, 1H), 7.37 - 7.31 (m, 3H), 7.24 - 7.20 (m, 2H), 7.20 - 7.16 (m, 1H), 6.28 (d, J=7.9 Hz, 1H), 6.20 (d, J=8.5 Hz, 1H), 5.83 - 5.72 (m, 2H), 4.60 - 4.46 (m, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.76 (s, 3H), 3.55 - 3.43 (m, 2H), 1.83 - 1.73 (m, 1H), 1.73 - 1.65 (m, 1H), 1.46 (br d, J=13.6 Hz, 2H), 1.41 (s, 9H), 1.15 - 1.04 (m, 2H), 0.91 (s, 9H), 0.74 (t, J=7.3 Hz, 3H). Condiciones de LC/MS B: LC RT: 1.07 min. LCMS (M+H) =767.4.

**[00236]** *Compuesto 73.* Una solución de éster metílico **72** (227 mg, 0.297 mmol) en THF (4.2 mL) se enfrió a 0 °C y se trató con LiAlH<sub>4</sub> (1M en THF, 327 µL, 0.327 mmol). Después de 10 minutos, se agregó LiAlH<sub>4</sub> adicional (1M en THF, 150 µL, 0.150 mmol). Después de 30 minutos, la reacción se detuvo con MeOH y sal de Rochelle (solución acuosa saturada) y se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. La mezcla se extrajo con EtOAc (3X). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con H<sub>2</sub>O y se concentraron *al vacío*. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (SiO<sub>2</sub> de 12 g; 0% al 100% EtOAc-hexano, elución en gradiente) para proporcionar el compuesto **73** (91.5 mg, 42%). Condiciones de LC/MS B: LC RT: 1.02 min. LCMS (M+H) =739.7.

[00237] **Compuesto 74.** Una solución del compuesto **73** (91,5 mg, 0,124 mmol) en THF (1.2 ml) se trató con cloruro de tionilo (45 µl, 0.61 mmol) y se agitó a temperatura ambiente. Después de 15 minutos, la mezcla de reacción se concentró al vacío, el residuo se volvió a disolver en DCM y se concentró al vacío para proporcionar el compuesto **74** (94 mg, 100%). Condiciones de LC/MS B: LC RT: 1.09 min. LCMS (M+H) = 757.3.

[00238] **Compuesto 75.** Una solución del compuesto **74** (20 mg, 0.027 mmol) en DMF (0.5 ml) se trató con DIEA (70 µL, 0.40 mmol) y 3-(terc-butil)ciclobutan-1-amina **74a** (34.1 mg, 0.268 mmol) y se calienta a 70 °C durante 1 hora. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se concentró al vacío. El residuo se disolvió en EtOAc y se lavó con una solución acuosa saturada de NaHCO<sub>3</sub>. La capa orgánica se concentró al vacío para proporcionar el compuesto **75** (22 mg, 97%), que se usó sin purificación adicional. Condiciones de LC/MS B: LC RT: 0.95 min. LCMS (M+H) = 848.6.

[00239] **Compuesto 866.** Una solución de compuesto **75** (25 mg, 0.029 mmol) en MeOH (0.6 ml) se trató con HCl (solución acuosa al 37%, 0.3 mL, 3,7 mmol) y se agitó a temperatura ambiente durante 6 horas. La mezcla de reacción se neutralizó con NaHCO<sub>3</sub> y se extrajo con DCM (3x). Las capas orgánicas combinadas se concentraron *al vacío*. El residuo se redisolvió en DMF y se filtró a través de un filtro de PTFE. El producto crudo se purificó mediante condiciones de HPLC/MS preparativas A-1: La recolección de fracciones fue activada por señales de MS. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga para proporcionar el compuesto **866** (3.3 mg, 22% de rendimiento). Condiciones de LC/MS C: LC RT = 1.23 min. LCMS (M+H) = 510.23.

[00240] Compuestos adicionales de acuerdo con esta descripción se pueden hacer siguiendo este Procedimiento, *mutatis mutandis*.

#### *Procedimiento 9 - Compuestos por FIG. 9*

[00241] Este procedimiento y La Figura acompañante. 9 ilustran otro método para hacer compuestos descritos en este documento, utilizando los compuestos **853** y **870** como ejemplos.

[00242] **Compuesto 76.** Una solución de compuesto **55** (400 mg, 1.40 mmol) y carbonato de cesio (914 mg, 2.8 mmol) en DMF/acetonitrilo (5 mL/ 5 mL) se enfrió en un baño de hielo. Se añadió una solución de 4-(bromometil)-3-fluorobenzoato de metilo **55a** (277 mg, 1.12 mmol) en acetonitrilo (5 mL) y la reacción se agitó a 0 °C durante 30 minutos, luego a temperatura ambiente durante una hora más. El acetonitrilo se evaporó de la mezcla de reacción y se purificó

usando cromatografía ultrarrápida de fase inversa (columna de 100 g, MeCN al 10 a 60% en agua que contenía TFA al 0.05%) para proporcionar el compuesto **76** (482 mg, 1.07 mmol, 35% de pureza (contaminado con El regioisómero N2, rendimiento del 27%) como un sólido. LC-MS (ES,  $m/z$ ):  $[M+H]^+ = 451.1, 453.2$ .

5 **[00243]** *Compuesto 77.* El compuesto **76** (470 mg, 1.04 mmol, pureza del 35% (contaminado con el regioisómero N2) se disolvió en etanol (50 mL). Se añadió 10% Pd/C (20 mg), y la reacción se evacuó y se purgó con hidrógeno seis veces, luego se agitó en una atmósfera de hidrógeno durante 90 minutos. La mezcla de reacción se filtró a través de CELITE®, se lavó con EtOH (100 mL) y se evaporó a sequedad, dando el compuesto **77** (370 mg, 0.99 mmol, pureza  
10 del 35% (contaminado con el regioisómero N2), rendimiento del 95%) como un sólido. LC-MS (ES,  $m/z$ ):  $[M+H]^+ = 373.3$ .

**[00244]** *Compuesto 78.* Una suspensión agitada del compuesto **77** (370 mg, 0.99 mmol, pureza del 35% contaminada con el regioisómero N2) en THF (100 mL) se enfrió en un baño de hielo. Se añadió  $LiAlH_4$  (754 mg, 1.98 mmol) en porciones durante 5 minutos, y la reacción se  
15 agitó a 0 °C durante 20 minutos. Se añadió NaOH (1 N, 50 mL) y la reacción se agitó durante 10 minutos a temperatura ambiente, se transfirió a un embudo de separación y se extrajo con EtOAc (3 x 40 mL). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3 x 30 ml), se secaron ( $MgSO_4$ ), se filtraron y se concentraron. La cromatografía ultrarrápida (columna de 40 g, MeOH al 0 a 25% en DCM) produjo el compuesto **78** (74 mg, 0.215 mmol, rendimiento de 21.63%)  
20 como un sólido. LC-MS (ES,  $m/z$ ):  $[M+H]^+ = 345.3$ .

**[00245]** *Compuesto 853.* Un vial de centelleo de 20 mL se cargó con el compuesto **78** (25 mg, 0.073 mmol) y THF (4 mL). Se añadieron 3 gotas de cloruro de tionilo y la mezcla de reacción se agitó durante 1 hora. La mezcla de reacción se evaporó a sequedad y el residuo se disolvió en acetonitrilo (5 mL) y se evaporó dos veces. El residuo se disolvió en DMF (1,5 mL).  
25 Se añadió ciclobutanamina (20.7 mg, 0.29 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se filtró y se purificó mediante HPLC preparativa/condiciones de EM A-1: La recolección de fracciones fue activada por señales de MS y UV. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga para proporcionar el compuesto **853** (19.5 mg, 0.03 mmol, 42%  
30 de rendimiento).

**[00246]** *Compuesto 870.* Un vial de centelleo de 20 mL se cargó con el compuesto **78** (50 mg, 0.15 mmol) y THF (4 mL). Se añadieron 3 gotas de cloruro de tionilo y la mezcla de reacción se

agitó durante 1 h. La mezcla de reacción se evaporó a sequedad. El residuo se disolvió en acetonitrilo (5 mL) y se evaporó dos veces. El residuo se disolvió en DMF (2 mL). Se añadió 2-(piperazin-1-il)etan-1-ol (38 mg, 0.29 mmol), seguido de DIPEA (0.10 mL, 0.58 mmol), y la mezcla de reacción se agitó a 50 °C durante 1 hora. Después de enfriar, la mezcla de reacción se  
5 filtró y se purificó mediante condiciones de HPLC/MS preparativas A-1: La recolección de fracciones fue activada por señales de MS y UV. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga, proporcionando el compuesto **870** (41 mg, 0.06 mmol, 42% de rendimiento).

[00247] Compuestos adicionales de acuerdo con esta descripción se pueden hacer siguiendo  
10 este Procedimiento, *mutatis mutandis*.

#### *Procedimiento 10 - Compuestos por FIG. 10*

[00248] Este procedimiento y La Figura acompañante. 10 ilustran otro método para hacer compuestos descritos en el presente documento, utilizando el compuesto **873** como un ejemplo.

[00249] *Compuesto 80.* Un vial de centelleo de 40 mL se cargó con el compuesto **79** (250  
15 mg, 1.55 mmol), NBS (331 mg, 1.86 mmol), AIBN (50.9 mg, 0.31 mmol) y CCl<sub>4</sub> (5 mL). La mezcla de reacción se agitó a 70 °C durante 2 horas. Después de enfriar, la mezcla de reacción se evaporó a sequedad. La cromatografía ultrarrápida (24 g de columna, 0 a 40% EtOAc en hexanos) proporcionó el compuesto **80** (189 mg, 0.787 mmol, 51% de rendimiento) como un sólido. LC-MS (ES, *m/z*): No se ha detectado ningún ion. <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.33  
20 (d, *J*=7.7 Hz, 1H), 6.88 (d, *J*=7.7 Hz, 1H), 6.84 (s, 1H), 4.53 (s, 2H), 3.92 (s, 3H), 3.74 (s, 2H).

[00250] *Compuesto 81.* A una suspensión agitada de (7-(butilamino)-1H-pirazolo[4,3-  
d]pirimidin-5-il)carbamato de metilo (6 g, 22.7 mmol) en DMF (10 mL) y se añadió una  
solución de NBS (4.44 g, 25.0 mmol) en acetonitrilo (20 mL). La mezcla de reacción se agitó a  
temperatura ambiente durante 1 hora. Se añadió agua (50 mL). La mezcla de reacción se filtró.  
25 El residuo se lavó con agua (3 x 30 mL) y se secó al aire durante la noche para proporcionar el  
compuesto **81** (5.112 g, 14.9 mmol, rendimiento del 66%) como un sólido. LC-MS (ES, *m/z*):  
[M+H]<sup>+</sup> = 343.0, 345.0. <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 12.87 (br s, 1H), 9.80 (s, 1H), 7.56  
(br s, 1H), 3.62 (s, 3H), 3.54 (q, *J*=6.6 Hz, 2H), 1.62 (quin, *J*=7.2 Hz, 2H), 1.40 (dq, *J*=14.8, 7.4  
Hz, 2H), 0.94 (t, *J*=7.4 Hz, 3H).

[00251] *Compuesto 82.* El compuesto **81** (1 g, 2.91 mmol) se disolvió en DMF (10 mL) y se  
enfrió en un baño de hielo. Se añadió carbonato de cesio (1.899 g, 5.83 mmol), seguido por el

compuesto **80** (0.560 g, 2.33 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 5 horas y luego se vertió en una solución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (50 mL) y se extrajo con EtOAc (3 x 40 mL). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (4 x 40 mL), se secaron (MgSO<sub>4</sub>), se filtraron y se concentraron. La cromatografía ultrarrápida (40 g de columna, 0 a 85% EtOAc en hexano) proporcionó el compuesto **82** (219 mg, 0.44 mmol, 15 % de rendimiento) como un sólido. LC-MS (ES, *m/z*): [M+H]<sup>+</sup> 502.2, 504.2. <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.25 - 7.19 (m, 1H), 6.98 (s, 1H), 6.97 - 6.91 (m, 1H), 5.70 (s, 2H), 5.28 (s, 1H), 3.98 (s, 3H), 3.84 (s, 3H), 3.78 - 3.60 (m, 4H), 1.72 - 1.41 (m, 2H), 1.41 - 1.20 (m, 2H), 0.94 (t, *J*=7.3 Hz, 3H).

**[00252]** *Compuesto 83.* El compuesto **82** (219 mg, 0.44 mmol) se disolvió en EtOH (10 mL) y se añadió 10% Pd/C(20 mg). El recipiente de reacción se evacuó y se purgó con H<sub>2</sub> seis veces, luego se agitó bajo una atmósfera de H<sub>2</sub> durante 2 horas. La mezcla de reacción se filtró y se evaporó a sequedad, dando el compuesto **83** (188 mg, 0.44 mmol, 100% de rendimiento) como un sólido. LC-MS (ES, *m/z*): [M+H]<sup>+</sup> 424.4. <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 11.71 (br s, 1H), 8.67 (br s, 1H), 8.04 (s, 1H), 7.05 (s, 1H), 6.89 (s, 2H), 5.77 (s, 2H), 4.01 (s, 2H), 3.83 (s, 3H), 3.76 (s, 3H), 3.69 - 3.58 (m, 2H), 1.72 - 1.48 (m, 2H), 1.41 - 1.17 (m, 2H), 0.90 (t, *J*=7.4 Hz, 3H).

**[00253]** *Compuesto 873.* El Compuesto **83** (25 mg, 0.059 mmol) se disolvió en dioxano (2 mL); Se añadió hidróxido de sodio (0.354 ml, 1.77 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 80 °C durante 3 hpras. Después de enfriar, la reacción se neutralizó con HCl 5 N, luego se evaporó a sequedad. El residuo se disolvió en DMF (2 mL), se filtró y se purificó mediante condiciones de HPLC/MS preparativas A-2: La recolección de fracciones fue activada por señales de MS. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga para proporcionar el compuesto **873** (6.2 mg, 0.013 mmol, 22%).

**[00254]** Compuestos adicionales de acuerdo con esta descripción se pueden hacer siguiendo este Procedimiento, *mutatis mutandis*.

#### *Procedimiento 11 - Compuestos por FIG. 11*

**[00255]** Este procedimiento y La Figura acompañante. 11 ilustran otro método para hacer compuestos descritos en el presente documento, utilizando el compuesto **855** como un ejemplo.

**[00256]** *Compuesto 85.* A una solución de 5-metoxi-6-metilnicotinato de metilo **84** (300 mg, 1656 μmol) y NBS (413 mg, 2318 μmol) en CCl<sub>4</sub> (3 mL), se añadió AIBN (54,4 mg, 331 μmol).

La mezcla de reacción se agitó a 80 °C durante 30 min. El análisis LCMS mostró que la reacción fue completa. La mezcla de reacción se enfrió y se diluyó con DCM (2 mL). La solución resultante se purificó en una columna de sílice RediSepRf Gold de 40 g. Fase móvil A: hexanos; Fase móvil B: Acetato de etilo; Gradiente: 1 min a 0% de B, 15 min a 0-50% de B; Tasa de flujo: 40 mL/min; Temperatura de columna: 25 °C. La recolección de fracciones fue activada por señales UV a 254 nm. Las fracciones que contenían el producto esperado se combinaron, se concentraron y se secaron a alto vacío para proporcionar el compuesto **85** (215 mg, 50%). Condiciones LC/MS E: LC RT: 1.57 min. [M+H]<sup>+</sup>/Z= 260.0

**[00257]** *Compuesto 86.* A una solución del compuesto **30** (427 mg, 2070 µmol) en DMF (2 ml), se agregó Cs<sub>2</sub>CO (701 mg, 2152 µmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 10 min. Se añadió lentamente a la mezcla de reacción una solución del compuesto **85** (215 mg, 0.827 mmol) en acetonitrilo (2 mL). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. El análisis LCMS mostró 3 picos correspondientes al producto m/z. La mezcla de reacción se neutralizó con ácido acético (0.3 mL), se diluyó con agua y se purificó mediante HPLC preparativa/condiciones de EM A-3: La recolección de fracciones fue activada por señales UV. Las fracciones correspondientes a los tres picos se liofilizaron por separado. El análisis de RMN confirmó que el compuesto correspondiente al último pico era el compuesto deseado **86** (76 mg, 11,9%). Condiciones LC/MS E: LC-RT: 1.89 min. [M+H]<sup>+</sup>/Z= 386.2. <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.57 (t, J = 5.7 Hz, 1H), 8.50 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 7.88 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.76 (s, 1H), 5.95 (s, 2H), 4.00 (s, 3H), 3.89 (s, 3H), 3.55 (q, J = 6.8 Hz, 2H), 1.59 – 1.48 (m, 2H), 1.30 – 1.14 (m, 2H), 0.86 (t, J = 7.4 Hz, 3H).

**[00258]** *Compuesto 87.* A una solución del compuesto **86** (38 mg, 0.099 mmol) en THF (1 ml), se agregó LiAlH<sub>4</sub> en THF (0.079 mL, 0.197 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 10 min. El análisis LCMS mostró que la reacción fue completa. La mezcla de reacción se neutralizó con ácido acético (0.2 mL), se diluyó con agua (3 mL) y se purificó en condiciones de HPLC/MS A-3: La recolección de fracciones fue activada por señales UV. Las fracciones que contenían el producto esperado se combinaron y se liofilizaron para proporcionar el compuesto **87** (28 mg, 79%). Condiciones LC/MS E: LC-RT: 1.26 min. [M+H]<sup>+</sup>/Z= 357.2.

**[00259]** *Compuesto 855.* A una solución del compuesto **87** (28 mg, 0.078 mmol) en DCM (1 ml), se añadió SOCl<sub>2</sub> (0.144 ml, 1.972 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura

ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se concentró y se evaporó junto con DCM (3 x 20 mL) para formar N7-butil-1-((5-(clorometil)-3-metoxipiridin-2-il)metil)-1H-pirazolo [0,3-d]pirimidina-5,7-diamina cruda (41 mg), que se usó para la siguiente etapa inmediatamente sin purificación.

5 **[00260]** A una solución del compuesto anterior (41 mg, 0.109 mmol, crudo) en DMF (1 ml), se añadió ciclobutanamina (388 mg, 5.45 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. El análisis LCMS mostró que la reacción fue completa. La mezcla de reacción se liofilizó con acetonitrilo y agua. El material crudo se purificó mediante HPLC preparativa con las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 200 mm x 19 mm, partículas  
10 de 5 µm; Fase móvil A: 5:95 acetonitrilo: agua con acetato de amonio 10 mM; Fase móvil B: 95:5 acetonitrilo: agua con acetato de amonio 10 mM; Gradiente: una retención de 0 minutos al 8% B, 8-48% B durante 20 minutos, luego una retención de 0 minutos al 100% B; Tasa de flujo: 20 mL/min; Temperatura de columna: 25 °C. La recolección de fracciones fue activada por MS y señales UV. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron  
15 mediante evaporación centrífuga para proporcionar 6.6 mg (14.8%) del compuesto **855** (6.6 mg, 14.8%). Condiciones LC/MS: Columna: Waters Acquity BEH C18, 2.1 mm x 50 mm, partículas de 1.7 µm; Fase móvil A: acetonitrilo al 5:95: agua con acetato de amonio 10 mM; Fase móvil B: 95:5 acetonitrilo: agua con acetato de amonio 10 mM; Temperatura: 50 °C; Gradiente: 0% de B a 100% de B durante 3 minutos, luego un mantenimiento de 0.50 minutos a 100% de B; Tasa de  
20 flujo: 1 mL/min; Detección: MS y UV (220 nm). LC RT = 1.36 min. (M+H) = 411.1

**[00261]** Compuestos adicionales de acuerdo con esta descripción se pueden hacer siguiendo este Procedimiento, *mutatis mutandis*.

#### *Procedimiento 12 - Compuestos por FIG. 12*

**[00262]** Este procedimiento y La Figura acompañante. 12 ilustran otro método para hacer  
25 compuestos descritos en el presente documento, utilizando el compuesto **867** como un ejemplo.

**[00263]** *Compuesto 90.* A una solución del compuesto **89** (300 mg, 0.722 mmol) disuelto en DCM (3 mL) a -78 °C se añadió bromuro de etilmagnesio (0.633 mL, 2.165 mmol). Se añadió lentamente 2-metiltetrahidrofurano a la mezcla de reacción y se agitó a -78 °C durante 1 hora y luego a 0 °C durante 1 hora. La mezcla de reacción se inactivó con una solución saturada de  
30 cloruro de amonio (1 mL) y se llevó a temperatura ambiente, luego se diluyó con DCM (10 mL), se lavó con agua (5 mL) y luego se siguió con una solución de salmuera (5 mL). La capa

orgánica se secó sobre sulfato de sodio, se filtró, se concentró, se purificó en gel de sílice con acetato de etilo/hexano. Las fracciones que contenían el producto se concentraron para proporcionar el compuesto **90** en forma de un aceite espeso (204 mg, 63.4% de rendimiento). <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, Cloroformo-*d*) δ 7.58 (m, 4H), 7.42 – 7.26 (m, 6H), 3.75 – 3.57 (m, 2H), 3.31 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 2.93 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 1.75 (m, 1H), 1.68 – 1.47 (m, 3H), 1.06 (s, 9H), 0.98 (s, 9H), 0.87 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H). LCMS: *M/Z* = 446.2.

**[00264]** *Compuesto 91.* Se añadió ácido clorhídrico (194 µL, 0.774 mmol, 4 M en dioxano) a una solución del compuesto **90** (203 mg, 0.455 mmol) en éter dietílico (4554 µL) y MeOH (55.3 µL, 1.366 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La solución se concentró hasta un aceite espeso. Luego se añadieron 20 mL de hexano al aceite y el matraz se mantuvo en el congelador a -20 °C durante 1 h. El sólido blanco se recolectó y se lavó con hexanos fríos, luego se secó al vacío para proporcionar el compuesto **91** (116 mg, 0.307 mmol, 67.4% de rendimiento) como un sólido blanco. <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 7.85 (s, 3H), 7.63 (ddd, *J* = 7.7, 3.0, 1.7 Hz, 4H), 7.56 – 7.40 (m, 6H), 3.92 – 3.65 (m, 2H), 3.18 (p, *J* = 6.3 Hz, 1H), 1.86 (dq, *J* = 13.0, 6.5 Hz, 1H), 1.76 (dq, *J* = 13.4, 6.4 Hz, 1H), 1.64 – 1.47 (m, 2H), 1.01 (s, 9H), 0.89 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H). LCMS: *M/Z* = 342.2.

**[00265]** *Compuesto 867.* Una solución del compuesto **88** (30 mg, 0.068 mmol) en DMSO (0.75 mL) se trató con el compuesto **91** (51.3 mg, 0.136 mmol), DBU (51.1 µL, 0.339 mmol) seguido de BOP (60.0 mg, 0.136 mmol) y se calentó a 70 °C durante 2 horas para proporcionar el compuesto **92**, el cual no se aisló. Se añadió una solución acuosa de hidróxido de sodio 10 M (250 µl, 2.500 mmol) a la mezcla de reacción del compuesto **92** y se agitó a 75 °C durante toda la noche. La mezcla de reacción se concentró *al vacío* y el residuo se trató con MeOH (0.3 mL) y HCl (solución acuosa al 37%, 0.3 mL, 3.7 mmol), se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos y se concentró. El producto crudo se disolvió en DMF, se filtró a través de una frita de PTFE y se purificó mediante condiciones de HPLC preparativas A-1. La recolección de fracciones fue activada por señales de MS. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga para producir el compuesto **867** en forma de un sólido blanco (13 mg, 40% de rendimiento).

**[00266]** Compuestos adicionales de acuerdo con esta descripción se pueden hacer siguiendo este Procedimiento, *mutatis mutandis*.

### Procedimiento 13 - Compuestos por FIG. 13

[00267] Este procedimiento y La Figura acompañante. 13 ilustran otro método para hacer compuestos descritos en el presente documento, utilizando el compuesto **851** como un ejemplo.

5 [00268] El 6-(hidroximetil)nicotinato de metilo **94** se acopló con el compuesto **55** y luego se llevó al compuesto **851**, siguiendo las condiciones de reacción descritas anteriormente en este documento para las distintas etapas, *mutatis mutandis*.

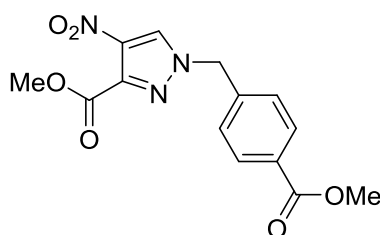
[00269] Compuestos adicionales de acuerdo con esta descripción se pueden hacer siguiendo este Procedimiento, *mutatis mutandis*.

### Procedimiento 14 - Compuestos por FIG. 14

10 [00270] Este procedimiento y La Figura acompañante. 14 ilustran otro método para hacer compuestos descritos en el presente documento, utilizando el compuesto **877** como un ejemplo.

[00271] **Compuesto 102.** Una solución de 4-nitro-1H-pirazol-5-carboxilato de metilo 100 (1.00 g, 5.61 mmol) y K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0.93 g, 6.73 mmol) en DMF (5.9 mL) se enfrió a 0 °C y se añadió 4-(bromometil)benzoato de metilo **101** (1.29 g, 5.61 mmol) en porciones. La mezcla de reacción  
15 se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 4 horas. La mezcla de reacción se concentró al vacío. El residuo se disolvió en EtOAc y se lavó con una solución saturada de NaHCO<sub>3</sub> y H<sub>2</sub>O (2x). La capa orgánica se concentró al vacío. El residuo se disolvió en DCM y se purificó mediante cromatografía en columna (SiO<sub>2</sub> de 80 g, gradiente de EtOAc-hexano al 0 a 50%) para proporcionar el compuesto **102** (0.37 g, 21%). <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-  
20 d) δ 8.10 - 8.08 (m, 1H), 8.06 - 8.01 (m, 2H), 7.32 (d, J=8.6 Hz, 2H), 5.55 (s, 2H), 3.93 (s, 3H), 3.92 - 3.92 (m, 3H). LC/MS condición B. LC RT: 0.95 min. LCMS (M+H) =320.1.

[00272] En la reacción anterior, se produjo algo del regioisómero N2, que se eliminó durante la cromatografía de SiO<sub>2</sub>:



25 [00273] **Compuesto 103.** Se añadió formiato de amonio (292 mg, 4.64 mmol) y zinc (189 mg, 2.9 mmol) a una solución del compuesto **102** (370 mg, 1.16 mmol), en THF (1.5 ml)/MeOH (1.5 ml) a temperatura ambiente. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas y se

añadió porciones adicionales de formiato de amonio (100 mg, 1.59 mmol) y zinc (100 mg, 2.04 mmol). Después de 30 minutos, la mezcla de reacción se filtró a través de una capa de CELITE™ y el filtrado se concentró *al vacío* para proporcionar un sólido blanco. El sólido se suspendió en EtOAc, se agitó durante 30 minutos y se filtró. El filtrado orgánico se concentró luego a vacío para proporcionar el compuesto **103** (335 mg, 100%). <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7.93 - 7.86 (m, 2H), 7.19 - 7.15 (m, 3H), 5.59 (s, 2H), 5.13 (s, 2H), 3.83 (s, 3H), 3.73 (s, 3H). LC/MS condición B: LC RT: 0.78 min. LCMS (M+H) =290.1.

[00274] **Compuesto 104.** Se añadieron 1,3-bis (metoxycarbonil)-2-metil-tiopseudourea **1** (271 mg, 1.27 mmol) y ácido acético (0.994 ml, 17.37 mmol) a una solución del compuesto **103** (335 mg, 1.16 mmol) en MeOH (14 mL) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas y se añadió una porción adicional de HOAc (0,5 ml, 8.7 mmol). Después de 16 horas a temperatura ambiente, se añadió otra porción de HOAc (0.3 ml, 5.2 mmol). Después de 72 horas, se añadió a la mezcla de reacción una solución de metóxido de sodio (7.94 ml, 34.7 mmol, 25% en MeOH). Después de agitar durante 2 horas, la mezcla de reacción se acidificó con HOAc (3 mL) y la suspensión resultante se filtró. El sólido resultante se lavó con H<sub>2</sub>O y MeOH, y se secó durante la noche para proporcionar el compuesto **104** (383 mg, 93%). <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 11.52 - 11.22 (m, 1H), 7.94 - 7.88 (m, 3H), 7.33 (d, J=8.3 Hz, 2H), 5.79 (s, 2H), 3.83 (s, 3H), 3.74 (s, 3H). Un protón no es visible, probablemente debido al intercambio de protones. LC/MS condición B: LC RT: 0.80 min. LCMS (M+H) =358.2.

[00275] **Compuesto 105.** Se añadió clorhidrato de (S)-1-((*terc*-butildifenilsilil)oxi)hexan-3-amina (**71a**) (840 mg, 2.14 mmol), BOP (711 mg, 1.61 mmol) y DBU (808 µL, 5.36 mmol) secuencialmente a una solución a temperatura ambiente del compuesto **104** (383 mg, 1.07 mmol) en DMF (5.4 mL). La mezcla de reacción se agitó durante 16 horas. Al final de la reacción, la mezcla se diluyó con EtOAc y se lavó con H<sub>2</sub>O (2X). La capa orgánica se concentró *al vacío*. El residuo se disolvió en DCM y se purificó mediante cromatografía en columna (SiO<sub>2</sub> de 40g, gradiente de 0 a 80% EtOAc-hexano) para proporcionar el compuesto **105** (424 mg, 57%). <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO- d<sub>6</sub>) δ 9.53 - 9.49 (m, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.66 (d, J=8.4 Hz, 2H), 7.64 - 7.59 (m, 1H), 7.54 - 7.50 (m, 2H), 7.47 - 7.44 (m, 1H), 7.42 - 7.39 (m, 2H), 7.36 - 7.31 (m, 2H), 7.31 (br t, J=1.4 Hz, 1H), 7.19 - 7.12 (m, 2H), 6.94 (d, J=8.4 Hz, 2H), 6.32 (d, J=8.6 Hz, 1H), 6.03 - 5.84 (m, 2H), 4.56 (td, J=8.4, 4.4 Hz, 1H), 3.72 (s, 3H), 3.56 (s, 3H), 3.49 - 3.38 (m, 1H),

1.84 - 1.68 (m, 2H), 1.55 - 1.39 (m, 2H), 1.36 - 1.21 (m, 1H), 1.18 - 1.07 (m, 1H), 0.91 - 0.86 (m, 9H), 0.74 (t,  $J=7.3$  Hz, 3H). LC/MS condición B: LC RT: 1.08 min. LCMS (M+H) =695.6.

[00276] **Compuesto 106.** Una solución del compuesto **105** (424 mg, 0.610 mmol) en THF (8.7 ml) se enfrió a  $-15$  °C y se añadió  $\text{LiAlH}_4$  (1M en THF, 1.1 ml, 1.1 mmol). Después de 15 minutos, se añadió una porción adicional de  $\text{LiAlH}_4$  (1 M en THF, 0.3 mL, 0.3 mmol). Después de 10 minutos, la reacción se apagó con MeOH y sal de Rochelle (solución saturada) y se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. La mezcla se extrajo con EtOAc (3x). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con  $\text{H}_2\text{O}$  y se concentraron *al vacío*. El residuo se disolvió en DCM/MeOH, se absorbió en CELITE™ y se purificó mediante cromatografía en columna ( $\text{SiO}_2$  de 24g; 0 a 100% de elución en gradiente de EtOAc-hexano) para proporcionar el compuesto **106** (181 mg, 44%).  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  9.47 (s, 1H), 7.91 (s, 1H), 7.62 (ddt,  $J=5.7, 3.6, 1.8$  Hz, 1H), 7.56 (dd,  $J=7.9, 1.5$  Hz, 2H), 7.48 - 7.43 (m, 3H), 7.39 - 7.32 (m, 3H), 7.24 - 7.20 (m, 2H), 7.08 (d,  $J=8.1$  Hz, 2H), 6.91 (d,  $J=8.1$  Hz, 2H), 6.29 (d,  $J=8.6$  Hz, 1H), 5.78 (d,  $J=1.9$  Hz, 2H), 5.06 (t,  $J=5.6$  Hz, 1H), 4.63 - 4.54 (m, 1H), 4.32 (d,  $J=5.4$  Hz, 2H), 3.57 (s, 3H), 3.55 - 3.49 (m, 1H), 1.85 - 1.76 (m, 2H), 1.55 - 1.40 (m, 2H), 1.20 - 1.02 (m, 2H), 0.91 (s, 9H), 0.78 (t,  $J=7.3$  Hz, 3H). LC/MS condición B: LC RT: 0.95 min. LCMS (M+H) =667.6.

[00277] **Compuesto 107.** Se añadió cloruro de tionilo (99  $\mu\text{L}$ , 1.4 mmol) a una solución a temperatura ambiente del compuesto metílico **106** (181 mg, 0.224 mmol) en THF (2.7 mL). Después de agitar durante 10 min, la mezcla de reacción se concentró al vacío. El residuo se volvió a disolver en DCM y se concentró al vacío para proporcionar el compuesto **107** (172.2 mg, 93%). LC/MS condición B: LC RT: 1.11 min. LCMS (M+H) =685.6.

[00278] **Compuesto 108.** El compuesto **107** (23 mg, 0.034 mmol) se disolvió en DMF (0.7 mL) a temperatura ambiente y se trató con DIEA (88  $\mu\text{L}$ , 0.50 mmol) y 3-metoxiazetidina (**26a**), como su clorhidrato (21 mg, 0.17 mmol). Después de agitar durante 2 horas a  $70$  °C, la mezcla de reacción se concentró al vacío para proporcionar el compuesto **108** crudo, que se usó sin purificación adicional. LC/MS condición B: LC RT: 0.89 min. LCMS (M+H) =736.7.

[00279] **Compuesto 877.** Una solución del compuesto **108** (25 mg, 0.034 mmol) en dioxano (0.7 mL) a temperatura ambiente se trató con NaOH (solución acuosa 10 M, 0.1 ml, 1.0 mmol). La reacción se calentó a  $75$  °C durante 2 horas, antes de la adición de otra porción de NaOH (solución acuosa 10 M, 0.15 ml, 1.5 mmol). Después de 4 horas de calentamiento a  $80$  °C, la mezcla de reacción se concentró al vacío. El residuo se trató con MeOH (0.5 mL), se añadió HCl (solución acuosa al 37%, 0.4 ml, 4.9 mmol), se agitó a temperatura ambiente durante 60

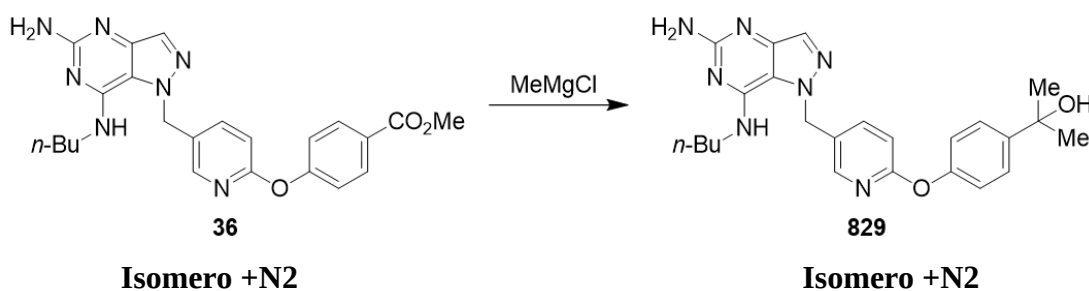
minutos y se concentró. El producto crudo se disolvió en DMF, se filtró a través de una frita de PTFE y se purificó por medio de la preparación de LC/MS Condición A-2. La recolección de fracciones fue activada por señales de MS. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga para proporcionar un residuo que se purificó adicionalmente por medio de las condiciones de preparación de LC/MS A-1. La recolección de fracciones fue activada por señales de MS. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga para proporcionar el compuesto **877**, como su sal TFA (5.7 mg, 38%). LC/MS condition C: LC RT: 1.0 min. LCMS (M+H) = 440.2.

**[00280]** **Compuesto 874.** Una solución del compuesto **106** (20 mg, 0.030 mmol) en dioxano (0.15 mL) a temperatura ambiente se trató con NaOH (solución acuosa 10 M, 0.2 mL, 2.0 mmol) y la reacción se calentó a 75 °C durante 1 hora, antes de la adición de otra porción de NaOH (solución acuosa 10 M, 0.2 mL, 2.0 mmol). Después de 3 horas de calentamiento a 75 °C, la mezcla de reacción se concentró al vacío. El residuo se trató con MeOH (0.5 mL) y HCl (solución acuosa al 37%, 0.4 mL, 4.9 mmol), se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos y se concentró. El producto crudo se disolvió en DMF, se filtró a través de una frita de PTFE y se purificó mediante condiciones preparativas de LC/MS A-2. La recolección de fracciones fue activada por señales de MS. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga para proporcionar el compuesto **874**. Condiciones de LC/MS C: LC RT: 1.07 min. LCMS (M+H) = 371.2.

**[00281]** Compuestos adicionales de acuerdo con esta descripción se pueden hacer siguiendo este Procedimiento, *mutatis mutandis*.

#### Procedimiento 15 - Compuesto 829

**[00282]** Este procedimiento se refiere a la preparación de los compuestos **829** y su regiosíomero. Estos compuestos se prepararon haciendo reaccionar los compuestos **36** y **37** con el reactivo de MeMgCl Grignard.



**[00283]** A una mezcla de los compuestos **36** y **37** (60 mg, 0.134 mmol) en THF (1 mL) se añadió MeMgCl (0.171 ml, 0.513 mmol) a 0 °C. Después de 1 hora, LCMS mostró que la reacción se completó. La mezcla se purificó mediante HPLC/MS preparativa con las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 200 mm x 19 mm, partículas de 5 µm; Fase móvil A: 5:95 acetonitrilo: agua con TFA al 0.1% ; Fase móvil B: 95:5 acetonitrilo: agua con TFA al 0.1%; Gradiente: una retención de 0 minutos al 10% B, 10-45% B durante 20 minutos, luego se mantuvo 4 minutos a 100% B; Tasa de flujo: 20 mL/min; Temperatura de la columna: 25 °C. La recolección de fracciones fue activada por señales de MS. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga.

## PROPIEDADES

**[00284]** Los datos analíticos para los compuestos de esta descripción se proporcionan en la siguiente Tabla B, junto con sus datos de agonismo de TLR7 (hTLR7) humano. En algunos casos, el valor de agonismo de actividad informado es el promedio de los ensayos plurales. La asociación de un compuesto en particular con un procedimiento en particular es ilustrativa y no exhaustiva. Un compuesto podría hacerse mediante uno de los otros procedimientos y, a la inversa, el mismo procedimiento podría usarse para hacer otros compuestos de esta descripción. La columna RT (tiempo de retención) se refiere al tiempo de retención según el procedimiento LCMS B/C/D/E anterior, según corresponda.

| Tabla B   |               |                             |                          |           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|-----------|---------------|-----------------------------|--------------------------|-----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Comp. No. | Procedimiento | hTLR7 EC <sub>50</sub> (nM) | LC/MS [M+H] <sup>+</sup> | RT: (min) | <sup>1</sup> H RMN (500 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 800       | 1             | 58.3                        | 409.5                    | 1.05      | δ 7.55 (s, 1H), 7.04 (s, 1H), 6.78 (d, <i>J</i> = 7.7 Hz, 1H), 6.43 (dd, <i>J</i> = 21.5, 6.9 Hz, 2H), 5.61 (d, <i>J</i> = 11.9 Hz, 4H), 3.84 (s, 3H), 3.61 (s, 1H), 3.43 – 3.37 (m, 1H), 3.18 (t, <i>J</i> = 7.8 Hz, 1H), 2.55 (s, 1H), 2.09 – 2.02 (m, 2H), 1.91 (s, 1H), 1.77 – 1.69 (m, 2H), 1.67 – 1.59 (m, 1H), 1.58 – 1.43 (m, 3H), 1.20 (p, <i>J</i> = 7.4 Hz, 2H), 0.85 (t, <i>J</i> = 7.4 Hz, 3H)                   |
| 801       | 2             | 160                         | 439,5                    | 0,87      | δ 8.22 (s, 1H), 7.73 (s, 1H), 7.18 (s, 1H), 7.01 (d, <i>J</i> = 8.0 Hz, 1H), 6.91 (d, <i>J</i> = 7.6 Hz, 1H), 5.71 (s, 2H), 4.13 (s, 2H), 3.92 (d, <i>J</i> = 9.8 Hz, 2H), 3.77 (s, 1H), 3.64 (s, 1H), 3.57 (d, <i>J</i> = 6.6 Hz, 1H), 3.30 (t, <i>J</i> = 11.6 Hz, 3H), 2.89 (s, 1H), 2.73 (s, 1H), 1.99 (d, <i>J</i> = 12.3 Hz, 2H), 1.63 – 1.52 (m, 4H), 1.28 (h, <i>J</i> = 7.4 Hz, 2H), 0.88 (t, <i>J</i> = 7.3 Hz, 3H) |
| 802       | 4 6           | 43.8                        | 492.2                    | 1.21      | δ 7.55 (s, 1H), 7.36 (d, <i>J</i> =8.5 Hz, 2H), 6.95 (d, <i>J</i> =8.5 Hz, 2H), 6.76 (d, <i>J</i> =2.1 Hz, 1H), 6.52 (d, <i>J</i> =8.5 Hz, 1H), 6.49 - 6.43 (m, 1H), 6.40 (dd, <i>J</i> =8.4, 2.3 Hz, 1H), 5.64 (s, 2H), 5.60 (s, 2H), 3.80 (s, 3H), 3.78 (s, 2H), 2.65 (t, <i>J</i> =5.6 Hz, 2H), 1.56 - 1.42 (m, 2H), 1.29 - 1.16 (m, 2H), 0.87 (t, <i>J</i> =7.5 Hz, 3H).                                                  |
| 803       | 4 6           | 569                         | 449.1                    | 1.58      | δ 7.74 (s, 1H), 7.33 (br d, <i>J</i> =8.2 Hz, 2H), 6.97 (d, <i>J</i> =8.2 Hz, 2H), 6.82 (d, <i>J</i> =8.2 Hz, 1H), 6.74 (d, <i>J</i> =2.1 Hz, 1H), 6.47 - 6.41 (m, 1H), 5.68 (s, 2H), 4.48 (br s, 2H), 3.73 (s, 3H), 3.64 - 3.53 (m, 2H), 1.59 (dt, <i>J</i> =14.6, 7.3 Hz, 2H), 1.27 (dt, <i>J</i> =14.9, 7.4 Hz, 2H), 0.90 (t, <i>J</i> =7.3 Hz, 3H)                                                                        |
| 804       | 2             | 43.4                        | 406.4                    | 0.91      | δ 8.90 (s, 1H), 8.26 (s, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.86 (s, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.64 (s, 1H), 7.50 (s, 1H), 7.15 (s, 1H), 6.88 (d, <i>J</i> = 7.8 Hz, 1H), 6.82 (d, <i>J</i> = 7.9 Hz, 1H), 5.71 (s, 2H), 5.33 (s, 2H), 3.77 (s, 3H), 2.90 (s, 1H), 2.73 (d, <i>J</i> = 9.5 Hz, 1H), 1.56 (p, <i>J</i> = 7.3 Hz, 2H), 1.23 (q, <i>J</i> = 7.3 Hz, 2H), 0.85 (t, <i>J</i> = 7.4 Hz, 3H)                                                |
| 805       | 2             | 41.4                        | 427.5                    | 0.94      | δ 8.18 (s, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.75 (s, 1H), 7.26 (s, 1H), 7.02 (d, <i>J</i> = 7.9 Hz, 1H), 6.82 (d, <i>J</i> = 7.6 Hz, 1H), 5.73 (s, 2H), 4.13 (s, 2H), 3.79 (s, 3H), 3.56 (d, <i>J</i> = 7.0 Hz, 1H), 2.90 (s, 1H), 2.72 (d, <i>J</i> = 17.1 Hz, 3H), 1.58 (p, <i>J</i> = 7.5 Hz, 2H), 1.28 (dd, <i>J</i> = 14.9, 7.5 Hz, 2H), 1.16 (s, 5H), 0.89 (t, <i>J</i> = 7.4 Hz, 3H)                                                 |

| Tabla B   |               |                             |                          |           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|-----------|---------------|-----------------------------|--------------------------|-----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Comp. No. | Procedimiento | hTLR7 EC <sub>50</sub> (nM) | LC/MS [M+H] <sup>+</sup> | RT: (min) | <sup>1</sup> H RMN (500 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| 806       | 2             | 41.4                        | 453.5                    | 0.82      | δ 8.28 (s, 1H), 7.82 (s, 1H), 7.76 (d, <i>J</i> = 12.9 Hz, 1H), 7.21 (s, 1H), 7.01 (d, <i>J</i> = 7.8 Hz, 1H), 6.90 (d, <i>J</i> = 7.7 Hz, 1H), 5.74 (s, 2H), 4.13 (s, 1H), 3.78 (s, 3H), 3.58 (q, <i>J</i> = 6.7 Hz, 1H), 3.42 (s, 0H), 2.96 (s, 1H), 2.72 (s, 1H), 2.08 (d, <i>J</i> = 12.0 Hz, 2H), 1.89 (d, <i>J</i> = 12.8 Hz, 2H), 1.59 (h, <i>J</i> = 7.6 Hz, 2H), 1.45 – 1.23 (m, 4H), 1.16 (q, <i>J</i> = 11.1 Hz, 2H), 0.91 (t, <i>J</i> = 7.3 Hz, 3H) |
| 807       | 2             | 2548                        | 439.5                    | 0.97      | δ 7.55 (s, 1H), 7.03 (s, 1H), 6.76 (d, <i>J</i> = 7.8 Hz, 1H), 6.45 (d, <i>J</i> = 7.8 Hz, 1H), 6.39 (s, 1H), 5.61 (d, <i>J</i> = 13.7 Hz, 3H), 3.89 (d, <i>J</i> = 19.6 Hz, 3H), 3.84 (s, 2H), 3.40 (d, <i>J</i> = 6.7 Hz, 1H), 3.18 (s, 1H), 2.44 (s, 1H), 2.23 (d, <i>J</i> = 8.6 Hz, 2H), 1.86 (s, 1H), 1.75 (s, 1H), 1.48 (t, <i>J</i> = 7.4 Hz, 2H), 1.41 (d, <i>J</i> = 9.6 Hz, 2H), 1.20 (q, <i>J</i> = 7.5 Hz, 2H), 0.85 (t, <i>J</i> = 7.3 Hz, 3H)     |
| 808       | 4 6           | 157                         | 506.2                    | 1.22      | δ 7.74 (br s, 1H), 7.51 (br d, <i>J</i> =8.5 Hz, 2H), 7.05 (br d, <i>J</i> =8.5 Hz, 2H), 6.84 - 6.78 (m, 2H), 6.47 (dd, <i>J</i> =7.8, 2.0 Hz, 1H), 5.70 (s, 2H), 4.14 (br s, 2H), 3.75 (s, 3H), 3.61 - 3.57 (m, 2H), 3.12 - 3.06 (m, 2H), 1.62 - 1.56 (m, 2H), 1.32 - 1.26 (m, 2H), 0.90 (br t, <i>J</i> =7.3 Hz, 3H).                                                                                                                                          |
| 809       | 4 6           | 74.5                        | 531.2                    | 1.43      | δ 7.76 (s, 1H), 7.37 - 7.31 (m, 2H), 7.02 - 6.94 (m, 2H), 6.85 (d, <i>J</i> =7.9 Hz, 1H), 6.77 (s, 1H), 6.46 - 6.41 (m, 1H), 5.72 - 5.69 (m, 2H), 3.73 (s, 3H), 3.62 - 3.58 (m, 2H), 1.64 - 1.57 (m, 2H), 1.32 - 1.26 (m, 2H), 0.90 (t, <i>J</i> =7.3 Hz, 3H).                                                                                                                                                                                                   |
| 810       | 4 6           | 245                         | 561.4                    | 1.0       | δ 7.74 (s, 1H), 7.38 - 7.23 (m, 2H), 6.98 (br d, <i>J</i> =8.7 Hz, 2H), 6.82 (d, <i>J</i> =8.5 Hz, 1H), 6.75 (s, 1H), 6.42 (br d, <i>J</i> =7.0 Hz, 1H), 5.68 (s, 2H), 3.50 (s, 3H), 3.17 (s, 2H), 3.08 (br dd, <i>J</i> =6.3, 2.2 Hz, 2H), 2.97 - 2.88 (m, 6H), 2.65 (br s, 2H), 1.63 - 1.52 (m, 2H), 1.28 - 1.24 (m, 2H), 0.93 - 0.81 (m, 3H).                                                                                                                 |
| 811       | 2             | 138                         | 425.2                    | 0.8       | δ 7.54 (s, 1H), 7.00 (s, 1H), 6.77 – 6.72 (m, 1H), 6.49 – 6.40 (m, 2H), 5.59 (d, <i>J</i> = 9.5 Hz, 3H), 4.23 (t, <i>J</i> = 6.1 Hz, 1H), 3.82 (s, 3H), 3.38 (q, <i>J</i> = 6.5 Hz, 2H), 3.18 (d, <i>J</i> = 13.2 Hz, 2H), 1.95 (t, <i>J</i> = 5.8 Hz, 2H), 1.89 (dd, <i>J</i> = 7.5, 4.9 Hz, 2H), 1.84 (s, 8H), 1.50 – 1.43 (m, 2H), 1.18 (q, <i>J</i> = 7.4 Hz, 2H), 0.84 (t, <i>J</i> = 7.3 Hz, 3H)                                                           |

| Tabla B   |               |                             |                          |           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|-----------|---------------|-----------------------------|--------------------------|-----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Comp. No. | Procedimiento | hTLR7 EC <sub>50</sub> (nM) | LC/MS [M+H] <sup>+</sup> | RT: (min) | <sup>1</sup> H RMN (500 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| 812       | 2             | 102                         | 450.5                    | 0.77      | δ 8.32 (s, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.77 (s, 1H), 7.15 (s, 1H), 6.96 (d, <i>J</i> = 7.7 Hz, 1H), 6.86 (d, <i>J</i> = 7.6 Hz, 1H), 5.74 (s, 2H), 4.22 (s, 1H), 3.78 (s, 2H), 2.90 (s, 3H), 2.55 (s, 1H), 1.58 (p, <i>J</i> = 7.3 Hz, 2H), 1.40 (s, 1H), 1.26 (q, <i>J</i> = 7.5 Hz, 2H), 0.88 (t, <i>J</i> = 7.3 Hz, 3H)                                                                                                                                                                                                                                          |
| 813       | 2             | 23.8                        | 424.5                    | 0.78      | δ 8.28 (s, 1H), 7.96 (s, 1H), 7.90 (s, 0H), 7.76 (s, 1H), 7.27 (s, 0H), 7.17 (s, 0H), 7.06 (d, <i>J</i> = 13.9 Hz, 1H), 6.89 (d, <i>J</i> = 7.8 Hz, 1H), 6.81 (d, <i>J</i> = 7.6 Hz, 1H), 5.72 (s, 2H), 3.77 (s, 2H), 3.73 (s, 1H), 3.58 (d, <i>J</i> = 6.9 Hz, 1H), 3.17 (d, <i>J</i> = 6.4 Hz, 2H), 2.90 (s, 3H), 2.55 (s, 1H), 1.58 (p, <i>J</i> = 7.1 Hz, 2H), 1.26 (q, <i>J</i> = 7.5 Hz, 2H), 0.88 (t, <i>J</i> = 7.3 Hz, 3H)                                                                                                                        |
| 814       | 2             | 97.6                        | 411.5                    | 0.83      | δ 8.28 (s, 1H), 7.84 (s, 1H), 7.76 (d, <i>J</i> = 9.0 Hz, 1H), 7.19 (s, 1H), 6.98 (d, <i>J</i> = 7.7 Hz, 1H), 6.87 (d, <i>J</i> = 7.6 Hz, 1H), 5.74 (s, 2H), 4.66 (t, <i>J</i> = 7.4 Hz, 2H), 4.56 (t, <i>J</i> = 6.6 Hz, 2H), 4.36 (q, <i>J</i> = 6.5 Hz, 1H), 4.23 (d, <i>J</i> = 14.0 Hz, 1H), 4.07 (s, 1H), 3.79 (s, 3H), 3.58 (d, <i>J</i> = 6.9 Hz, 2H), 2.51 (s, 8H), 1.60 (q, <i>J</i> = 7.4 Hz, 2H), 1.28 (dt, <i>J</i> = 15.3, 7.6 Hz, 2H), 0.90 (t, <i>J</i> = 7.3 Hz, 3H)                                                                      |
| 815       | 2             | 33.2                        | 439.5                    | 1.1       | δ 8.29 (d, <i>J</i> = 5.7 Hz, 1H), 7.96 (s, 1H), 7.89 (s, 1H), 7.77 (d, <i>J</i> = 5.7 Hz, 1H), 7.15 (s, 1H), 6.97 (d, <i>J</i> = 8.0 Hz, 1H), 6.85 (d, <i>J</i> = 7.7 Hz, 1H), 5.75 (d, <i>J</i> = 10.6 Hz, 2H), 4.35 (s, 1H), 4.29 (s, 1H), 4.25 (s, 1H), 4.07 (s, 1H), 4.00 (s, 1H), 3.79 (d, <i>J</i> = 5.5 Hz, 3H), 3.57 (q, <i>J</i> = 6.7 Hz, 1H), 3.43 (s, 1H), 2.90 (s, 2H), 2.73 (d, <i>J</i> = 9.7 Hz, 3H), 2.55 (s, 1H), 1.73 (s, 1H), 1.58 (p, <i>J</i> = 7.4 Hz, 2H), 1.27 (q, <i>J</i> = 7.4 Hz, 2H), 0.88 (td, <i>J</i> = 7.3, 4.3 Hz, 3H) |
| 816       | 2             | 92.5                        | 399.4                    | 1.0       | δ 8.19 (s, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.22 (s, 1H), 7.00 (d, <i>J</i> = 7.8 Hz, 1H), 6.86 (d, <i>J</i> = 7.7 Hz, 1H), 5.73 (s, 2H), 4.14 (s, 2H), 3.90 (s, 1H), 3.78 (s, 3H), 3.66 (s, 1H), 3.57 (s, 1H), 3.46 (s, 1H), 3.18 (s, 1H), 2.95 (t, <i>J</i> = 5.5 Hz, 2H), 2.90 (s, 1H), 2.74 (s, 1H), 2.55 (s, 1H), 1.58 (p, <i>J</i> = 7.3 Hz, 2H), 1.28 (h, <i>J</i> = 7.4 Hz, 2H), 0.89 (t, <i>J</i> = 7.3 Hz, 3H)                                                                                                                                   |

| Tabla B   |               |                             |                          |           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|-----------|---------------|-----------------------------|--------------------------|-----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Comp. No. | Procedimiento | hTLR7 EC <sub>50</sub> (nM) | LC/MS [M+H] <sup>+</sup> | RT: (min) | <sup>1</sup> H RMN (500 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| 817       | 3             | 27.8                        | 400.4                    | 1.17      | δ 7.73 (s, 1H), 7.64 (s, 1H), 7.33 (d, <i>J</i> = 8.5 Hz, 1H), 6.98 (s, 1H), 6.80 (d, <i>J</i> = 7.9 Hz, 1H), 6.64 (d, <i>J</i> = 7.6 Hz, 1H), 5.72 (d, <i>J</i> = 16.4 Hz, 1H), 5.64 (d, <i>J</i> = 16.3 Hz, 1H), 4.49 (d, <i>J</i> = 6.4 Hz, 1H), 4.44 (s, 2H), 3.87 (s, 1H), 3.75 (s, 3H), 3.46 (d, <i>J</i> = 11.3 Hz, 1H), 3.38 (d, <i>J</i> = 6.7 Hz, 1H), 3.14 (s, 1H), 2.52 (s, 2H), 1.68 (dq, <i>J</i> = 12.5, 6.6, 6.2 Hz, 2H), 1.47 (t, <i>J</i> = 5.8 Hz, 2H), 1.09 (q, <i>J</i> = 9.0, 8.2 Hz, 2H), 0.78 (t, <i>J</i> = 7.3 Hz, 3H) |
| 818       | 2             | 258                         | 356.4                    | 1.2       | 8.13 (s, 1H), 7.73 (s, 2H), 6.99 (s, 1H), 6.86 – 6.76 (m, 2H), 5.69 (s, 2H), 4.47 (s, 2H), 3.76 (s, 3H), 3.57 (d, <i>J</i> = 6.7 Hz, 1H), 1.57 (p, <i>J</i> = 7.2 Hz, 2H), 1.27 (dt, <i>J</i> = 15.0, 7.5 Hz, 2H), 1.17 (t, <i>J</i> = 7.2 Hz, 1H), 0.89 (t, <i>J</i> = 7.4 Hz, 3H)                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 819       | 2             | 44.4                        | 436.5                    | 0.97      | δ 8.27 (t, <i>J</i> = 5.7 Hz, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.76 (d, <i>J</i> = 0.9 Hz, 1H), 7.30 (s, 1H), 7.19 (s, 0H), 7.09 (s, 1H), 6.93 (d, <i>J</i> = 7.8 Hz, 1H), 6.82 (d, <i>J</i> = 7.7 Hz, 1H), 5.71 (s, 2H), 4.30 (s, 1H), 4.01 (s, 1H), 3.94 (s, 1H), 3.76 (s, 3H), 3.57 (s, 1H), 3.19 (d, <i>J</i> = 15.2 Hz, 1H), 3.02 (s, 1H), 2.89 (s, 1H), 2.73 (s, 1H), 2.55 (s, 3H), 2.22 (s, 1H), 1.84 (d, <i>J</i> = 11.5 Hz, 1H), 1.57 (p, <i>J</i> = 7.2 Hz, 2H), 1.25 (h, <i>J</i> = 7.5 Hz, 2H), 0.87 (t, <i>J</i> = 7.3 Hz, 3H)                    |
| 820       | 2             | 121                         | 453.5                    | 1.09      | δ 7.72 (s, 1H), 7.21 (s, 1H), 7.01 (d, <i>J</i> = 7.8 Hz, 1H), 6.91 (d, <i>J</i> = 7.7 Hz, 1H), 5.71 (s, 2H), 4.07 (s, 2H), 3.78 (s, 3H), 3.54 (s, 1H), 2.89 (s, 1H), 2.73 (s, 1H), 2.55 (s, 4H), 1.82 – 1.71 (m, 5H), 1.59 (dd, <i>J</i> = 15.5, 7.8 Hz, 4H), 1.30 (q, <i>J</i> = 7.5 Hz, 2H), 0.90 (t, <i>J</i> = 7.4 Hz, 3H)                                                                                                                                                                                                                  |
| 821       | 2             | 33.8                        | 438.5                    | 1.27      | δ 8.30 (s, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.77 (q, <i>J</i> = 1.5 Hz, 1H), 7.16 (s, 1H), 6.97 (d, <i>J</i> = 7.7 Hz, 1H), 6.83 (d, <i>J</i> = 7.7 Hz, 1H), 5.73 (s, 2H), 4.14 (s, 1H), 3.78 (d, <i>J</i> = 1.6 Hz, 3H), 3.57 (s, 1H), 3.23 (s, 2H), 2.89 (d, <i>J</i> = 1.5 Hz, 3H), 2.73 (d, <i>J</i> = 1.3 Hz, 3H), 2.55 (s, 2H), 2.03 (s, 2H), 1.57 (p, <i>J</i> = 7.3 Hz, 3H), 1.25 (q, <i>J</i> = 7.4 Hz, 3H), 0.87 (t, <i>J</i> = 7.3 Hz, 3H)                                                                                                          |

| Tabla B   |               |                             |                          |           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|-----------|---------------|-----------------------------|--------------------------|-----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Comp. No. | Procedimiento | hTLR7 EC <sub>50</sub> (nM) | LC/MS [M+H] <sup>+</sup> | RT: (min) | <sup>1</sup> H RMN (500 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 822       | 2             | 244                         | 475.5                    | 1.27      | δ 9.95 (s, 0H), 8.20 (d, <i>J</i> = 6.0 Hz, 1H), 7.73 (s, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.29 (s, 1H), 7.18 (s, 1H), 7.03 (s, 1H), 6.89 – 6.83 (m, 2H), 6.46 (d, <i>J</i> = 8.3 Hz, 1H), 5.81 (s, 1H), 5.66 (s, 1H), 4.20 (s, 1H), 3.86 (s, 1H), 3.72 (s, 1H), 3.46 (t, <i>J</i> = 7.3 Hz, 1H), 2.89 (s, 1H), 2.73 (s, 0H), 2.55 (s, 3H), 1.59 – 1.52 (m, 2H), 1.24 (q, <i>J</i> = 7.4 Hz, 2H), 0.86 (t, <i>J</i> = 7.3 Hz, 3H)                                         |
| 823       | 2             | 21.5                        | 468.6                    | 1.01      | δ 7.56 (s, 1H), 6.96 (s, 1H), 6.74 (d, <i>J</i> = 7.5 Hz, 1H), 6.43 (dd, <i>J</i> = 12.7, 6.8 Hz, 2H), 5.70 (s, 1H), 5.61 (s, 2H), 3.88 – 3.74 (m, 5H), 3.39 (d, <i>J</i> = 10.3 Hz, 2H), 2.59 – 2.53 (m, 9H), 2.40 (t, <i>J</i> = 6.3 Hz, 4H), 1.91 (d, <i>J</i> = 1.2 Hz, 3H), 1.45 (p, <i>J</i> = 7.2 Hz, 2H), 1.16 (h, <i>J</i> = 7.5 Hz, 2H), 0.83 (t, <i>J</i> = 7.4 Hz, 3H)                                                                          |
| 824       | 2             | 304                         | 436.5                    | 1.02      | δ 7.55 (s, 1H), 6.90 (d, <i>J</i> = 1.5 Hz, 1H), 6.70 (d, <i>J</i> = 7.5 Hz, 1H), 6.42 (d, <i>J</i> = 7.6 Hz, 1H), 5.61 (d, <i>J</i> = 17.6 Hz, 3H), 3.83 (s, 2H), 3.72 (s, 1H), 3.39 (d, <i>J</i> = 6.1 Hz, 1H), 3.20 (s, 2H), 2.55 (s, 5H), 1.87 (s, 4H), 1.52 – 1.42 (m, 2H), 1.19 (h, <i>J</i> = 7.3 Hz, 2H), 0.85 (t, <i>J</i> = 7.3 Hz, 3H)                                                                                                           |
| 825       | 2             | 43.5                        | 427.5                    | 1.25      | δ 8.24 (s, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.81 (s, 1H), 7.76 (s, 1H), 7.21 (s, 1H), 7.00 (d, <i>J</i> = 7.8 Hz, 1H), 6.83 (d, <i>J</i> = 7.7 Hz, 1H), 5.74 (s, 2H), 4.25 (s, 1H), 3.89 (s, 1H), 3.78 (s, 3H), 3.56 (d, <i>J</i> = 6.9 Hz, 1H), 3.43 (s, 1H), 3.17 (s, 1H), 3.08 (s, 1H), 2.89 (s, 1H), 2.73 (s, 1H), 2.66 (s, 3H), 2.54 (s, 3H), 1.83 (s, 1H), 1.57 (q, <i>J</i> = 7.3 Hz, 2H), 1.25 (dt, <i>J</i> = 14.9, 7.5 Hz, 2H), 0.87 (t, <i>J</i> = 7.4 Hz, 3H) |
| 826       | 2             | 182                         | 413.5                    | 0.85      | δ 8.29 (s, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.75 (s, 1H), 7.21 (s, 1H), 7.00 (d, <i>J</i> = 7.6 Hz, 1H), 6.87 (d, <i>J</i> = 7.7 Hz, 1H), 5.73 (s, 2H), 4.13 (s, 2H), 3.78 (s, 2H), 3.58 (t, <i>J</i> = 4.9 Hz, 2H), 3.29 (s, 2H), 3.07 (t, <i>J</i> = 5.1 Hz, 2H), 2.90 (s, 2H), 2.74 (s, 2H), 1.59 (p, <i>J</i> = 7.4 Hz, 2H), 1.28 (h, <i>J</i> = 7.8 Hz, 2H), 0.89 (t, <i>J</i> = 7.4 Hz, 3H)                                                                         |
| 827       | 2             | 47.6                        | 438.5                    | 0.89      | δ 7.65 (s, 1H), 6.94 (d, <i>J</i> = 7.9 Hz, 2H), 6.82 (d, <i>J</i> = 7.6 Hz, 1H), 5.74 (s, 1H), 5.35 (s, 2H), 3.87 (d, <i>J</i> = 2.1 Hz, 2H), 3.84 (s, 9H), 3.40 (s, 2H), 2.54 (s, 3H), 2.14 (s, 3H), 1.83 (s, 1H), 1.52 (t, <i>J</i> = 7.6 Hz, 2H), 1.28 (q, <i>J</i> = 7.5 Hz, 2H), 0.85 (t, <i>J</i> = 7.4 Hz, 3H)                                                                                                                                      |

| Tabla B   |               |                             |                          |           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|-----------|---------------|-----------------------------|--------------------------|-----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Comp. No. | Procedimiento | hTLR7 EC <sub>50</sub> (nM) | LC/MS [M+H] <sup>+</sup> | RT: (min) | <sup>1</sup> H RMN (500 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 828       | 2             | 98.7                        | 411.5                    | 0.92      | δ 8.17 (s, 0H), 7.72 (d, <i>J</i> = 2.4 Hz, 1H), 7.63 (s, 0H), 7.24 (d, <i>J</i> = 4.4 Hz, 1H), 7.03 (d, <i>J</i> = 7.7 Hz, 1H), 6.92 (d, <i>J</i> = 7.7 Hz, 1H), 5.73 (s, 2H), 4.09 (s, 2H), 3.78 s, 3H), 3.61 – 3.54 (m, 1H), 3.48 (s, 2H), 2.93 (s, 1H), 2.55 (s, 1H), 1.62 (q, <i>J</i> = 7.4 Hz, 2H), 1.38 – 1.27 (m, 11H), 1.21 – 1.14 (m, 1H), 0.92 (t, <i>J</i> = 7.4 Hz, 3H)                                                 |
| 829       | 15            | 1336                        | 448.2                    |           | δ 8.15 (s, 1H), 7.82 (s, 1H), 7.74 (br d, <i>J</i> =7.9 Hz, 1H), 7.59 (br s, 1H), 7.47 (d, <i>J</i> =8.5 Hz, 2H), 7.05 - 6.93 (m, 3H), 5.53 (br s, 1H), 5.42 (s, 2H), 1.55 (br t, <i>J</i> =7.5 Hz, 2H), 1.43 (s, 6H), 1.36 - 1.25 (m, 2H), 0.89 (br t, <i>J</i> =7.5 Hz, 3H)                                                                                                                                                         |
| 830       | 2             | 30.2                        | 423.5                    | 0.92      | δ 8.25 (s, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.77 (s, 1H), 7.21 (s, 1H), 6.99 (d, <i>J</i> = 7.7 Hz, 1H), 6.82 (d, <i>J</i> = 7.7 Hz, 1H), 5.76 (s, 2H), 4.23 (s, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.57 (d, <i>J</i> = 6.6 Hz, 1H), 2.93 (s, 1H), 2.55 (s, 4H), 1.78 (s, 1H), 1.65 (s, 1H), 1.58 (q, <i>J</i> = 7.3 Hz, 3H), 1.25 (q, <i>J</i> = 7.4 Hz, 2H), 1.17 (t, <i>J</i> = 7.2 Hz, 1H), 0.88 (t, <i>J</i> = 7.3 Hz, 3H)                                     |
| 831       | 2             | 104                         | 411.5                    | 1.0       | δ 7.74 (s, 1H), 7.21 (s, 1H), 6.99 (d, <i>J</i> = 8.0 Hz, 1H), 6.86 (d, <i>J</i> = 7.7 Hz, 1H), 5.74 (s, 1H), 4.12 (s, 1H), 3.78 (s, 3H), 3.57 (d, <i>J</i> = 6.6 Hz, 1H), 3.41 (s, 1H), 2.93 (s, 3H), 2.89 (s, 1H), 2.55 (s, 3H), 1.60 (q, <i>J</i> = 7.5 Hz, 3H), 1.30 (dq, <i>J</i> = 15.5, 7.5 Hz, 3H), 1.17 (t, <i>J</i> = 7.3 Hz, 6H), 0.89 (q, <i>J</i> = 7.2 Hz, 4H)                                                          |
| 832       | 2             | 141                         | 425.5                    | 0.82      | δ 8.31 (t, <i>J</i> = 5.6 Hz, 1H), 7.77 (d, <i>J</i> = 0.8 Hz, 1H), 7.19 (s, 1H), 6.99 (d, <i>J</i> = 7.7 Hz, 1H), 6.85 (d, <i>J</i> = 7.7 Hz, 1H), 5.75 (s, 2H), 4.24 (s, 1H), 3.79 (s, 3H), 3.58 (t, <i>J</i> = 6.7 Hz, 1H), 3.09 (s, 2H), 2.97 – 2.88 (m, 1H), 2.55 (d, <i>J</i> = 0.8 Hz, 9H), 1.57 (p, <i>J</i> = 7.3 Hz, 2H), 1.25 (h, <i>J</i> = 7.3 Hz, 2H), 1.17 (t, <i>J</i> = 7.3 Hz, 1H), 0.88 (t, <i>J</i> = 7.3 Hz, 3H) |
| 833       | 2             | 31.1                        | 409.5                    | 1.11      | δ 8.22 (s, 1H), 7.76 (s, 1H), 7.22 (s, 1H), 7.01 (d, <i>J</i> = 7.5 Hz, 1H), 6.83 (d, <i>J</i> = 7.7 Hz, 1H), 5.75 (s, 2H), 4.31 (s, 2H), 3.80 (s, 3H), 3.61 – 3.54 (m, 1H), 2.93 (s, 1H), 2.55 (s, 8H), 1.57 (p, <i>J</i> = 7.2 Hz, 2H), 1.27 (dt, <i>J</i> = 14.7, 7.5 Hz, 2H), 1.17 (t, <i>J</i> = 7.2 Hz, 1H), 0.88 (t, <i>J</i> = 7.3 Hz, 3H)                                                                                    |

| Tabla B   |               |                             |                          |           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|-----------|---------------|-----------------------------|--------------------------|-----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Comp. No. | Procedimiento | hTLR7 EC <sub>50</sub> (nM) | LC/MS [M+H] <sup>+</sup> | RT: (min) | <sup>1</sup> H RMN (500 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| 834       | 3             | 29.9                        | 494.3                    | 0.89      | δ 7.79 (s, 1H), 7.60 (d, <i>J</i> = 8.5 Hz, 1H), 7.13 (s, 1H), 6.93 (d, <i>J</i> = 7.8 Hz, 1H), 6.70 (d, <i>J</i> = 7.7 Hz, 1H), 5.82 – 5.69 (m, 2H), 4.52 (d, <i>J</i> = 9.2 Hz, 1H), 3.80 (s, 2H), 3.52 (s, 2H), 3.38 (t, <i>J</i> = 6.5 Hz, 2H), 2.92 (d, <i>J</i> = 6.0 Hz, 1H), 2.55 (s, 10H), 1.71 (q, <i>J</i> = 6.3 Hz, 2H), 1.53 (d, <i>J</i> = 8.7 Hz, 2H), 1.16 (td, <i>J</i> = 8.1, 7.7, 2.7 Hz, 4H), 0.81 (t, <i>J</i> = 7.3 Hz, 3H)                                                                                                                         |
| 835       | 3             | 89                          | 480.9                    | 1         | δ 7.57 (s, 1H), 6.91 (s, 1H), 6.70 (d, <i>J</i> = 7.8 Hz, 1H), 6.35 (d, <i>J</i> = 7.7 Hz, 1H), 5.71 – 5.61 (m, 3H), 5.55 (d, <i>J</i> = 17.0 Hz, 1H), 4.31 (d, <i>J</i> = 9.9 Hz, 1H), 3.84 (s, 2H), 3.79 (s, 2H), 3.44 (s, 1H), 3.29 (d, <i>J</i> = 7.1 Hz, 1H), 3.26 (d, <i>J</i> = 48.2 Hz, 5H), 3.17 (s, 0H), 2.55 (s, 6H), 1.84 (s, 5H), 1.63 (dd, <i>J</i> = 13.7, 6.6 Hz, 1H), 1.53 – 1.47 (m, 1H), 1.37 (dt, <i>J</i> = 34.6, 7.6 Hz, 2H), 1.08 – 1.01 (m, 2H), 0.76 (t, <i>J</i> = 7.3 Hz, 3H)                                                                  |
| 836       | 3             | 15.3                        | 451.2                    | 0.83      | δ 8.63 (s, 1H), 7.76 (s, 1H), 7.52 (d, <i>J</i> = 7.2 Hz, 2H), 7.35 (s, 1H), 7.14 (s, 1H), 6.85 (d, <i>J</i> = 7.7 Hz, 1H), 6.69 (d, <i>J</i> = 7.8 Hz, 1H), 5.77 (d, <i>J</i> = 16.5 Hz, 1H), 5.69 (d, <i>J</i> = 16.4 Hz, 1H), 5.29 (s, 2H), 4.52 (d, <i>J</i> = 7.0 Hz, 1H), 3.79 (s, 3H), 3.38 (d, <i>J</i> = 6.7 Hz, 1H), 3.18 (s, 0H), 2.93 (s, 2H), 2.55 (s, 6H), 1.71 (p, <i>J</i> = 6.1 Hz, 2H), 1.50 (q, <i>J</i> = 7.2 Hz, 2H), 1.13 (dt, <i>J</i> = 35.1, 7.5 Hz, 5H), 0.78 (t, <i>J</i> = 7.3 Hz, 3H)                                                        |
| 837       | 3             | 2.4                         | 491.2                    | 0.71      | δ 8.67 (d, <i>J</i> = 5.1 Hz, 2H), 7.91 (s, 0H), 7.78 (s, 1H), 7.71 (d, <i>J</i> = 8.3 Hz, 1H), 7.53 (d, <i>J</i> = 5.1 Hz, 2H), 7.22 (s, 1H), 7.00 (d, <i>J</i> = 7.6 Hz, 1H), 6.79 (d, <i>J</i> = 7.7 Hz, 1H), 5.82 – 5.71 (m, 2H), 4.56 (d, <i>J</i> = 7.2 Hz, 1H), 4.22 (d, <i>J</i> = 19.9 Hz, 4H), 3.79 (s, 3H), 3.41 (d, <i>J</i> = 6.3 Hz, 0H), 2.93 (q, <i>J</i> = 6.7 Hz, 1H), 2.55 (s, 0H), 1.79 – 1.72 (m, 2H), 1.56 (p, <i>J</i> = 8.0, 7.4 Hz, 2H), 1.23 (d, <i>J</i> = 10.9 Hz, 1H), 1.18 (q, <i>J</i> = 8.3, 7.4 Hz, 4H), 0.84 (t, <i>J</i> = 7.3 Hz, 3H) |
| 838       | 3             | 39.6                        | 483.1                    | 0.7       | δ 7.80 (s, 1H), 7.59 (d, <i>J</i> = 8.5 Hz, 1H), 7.19 (s, 1H), 6.95 (d, <i>J</i> = 7.9 Hz, 1H), 6.68 (d, <i>J</i> = 7.7 Hz, 1H), 5.79 (d, <i>J</i> = 16.8 Hz, 1H), 5.74 (d, <i>J</i> = 16.7 Hz, 1H), 4.57 – 4.51 (m, 1H), 3.81 (s, 3H), 3.40 (d, <i>J</i> = 17.5 Hz, 1H), 3.22 (s, 1H), 2.97 – 2.89 (m, 2H), 2.55 (s, 1H), 2.02 (s, 1H), 1.79 – 1.68 (m, 2H), 1.56 – 1.50 (m, 2H), 1.16 (dt, <i>J</i> = 12.8, 7.3 Hz, 5H), 0.82 (t, <i>J</i> = 7.3 Hz, 3H)                                                                                                                |

| Tabla B   |               |                             |                          |           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|-----------|---------------|-----------------------------|--------------------------|-----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Comp. No. | Procedimiento | hTLR7 EC <sub>50</sub> (nM) | LC/MS [M+H] <sup>+</sup> | RT: (min) | <sup>1</sup> H RMN (500 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 839       | 3             | 242                         | 481.1                    | 0.74      | δ 7.57 (s, 1H), 7.01 (s, 1H), 6.78 (d, <i>J</i> = 7.9 Hz, 1H), 6.37 (d, <i>J</i> = 7.7 Hz, 1H), 5.74 – 5.66 (m, 1H), 5.64 (s, 2H), 5.55 (d, <i>J</i> = 17.1 Hz, 1H), 4.31 (s, 1H), 3.84 (s, 2H), 3.63 (d, <i>J</i> = 8.6 Hz, 7H), 3.60 (d, <i>J</i> = 6.0 Hz, 6H), 3.37 (s, 1H), 3.30 (q, <i>J</i> = 7.9, 7.1 Hz, 2H), 3.16 (d, <i>J</i> = 12.7 Hz, 1H), 2.81 (s, 1H), 2.70 (d, <i>J</i> = 10.3 Hz, 1H), 2.55 (s, 7H), 1.81 (s, 3H), 1.63 (dd, <i>J</i> = 13.1, 6.4 Hz, 1H), 1.51 (dd, <i>J</i> = 13.3, 6.3 Hz, 2H), 1.41 (d, <i>J</i> = 6.8 Hz, 1H), 1.34 (t, <i>J</i> = 7.4 Hz, 1H), 1.03 (d, <i>J</i> = 8.0 Hz, 2H), 0.75 (t, <i>J</i> = 7.3 Hz, 3H) |
| 840       | 3             | 14.7                        | 484.2                    | 0.82      | δ 8.97 (s, 2H), 7.85 (s, 2H), 7.77 (s, 1H), 7.70 (d, <i>J</i> = 8.3 Hz, 1H), 7.24 (d, <i>J</i> = 1.5 Hz, 1H), 7.02 (dd, <i>J</i> = 7.7, 1.5 Hz, 1H), 5.76 (d, <i>J</i> = 2.9 Hz, 2H), 4.57 (dq, <i>J</i> = 14.2, 6.8 Hz, 2H), 4.17 (s, 2H), 3.93 (dd, <i>J</i> = 11.3, 3.9 Hz, 2H), 3.80 (s, 3H), 3.53 – 3.16 (m, 5H), 2.07 – 1.92 (m, 2H), 1.75 (q, <i>J</i> = 6.6 Hz, 2H), 1.68 – 1.46 (m, 4H), 1.21 (h, <i>J</i> = 7.3 Hz, 2H), 0.85 (t, <i>J</i> = 7.3 Hz, 3H)                                                                                                                                                                                      |
| 841       | 3             | 9.7                         | 454.2                    | 0.83      | δ 7.92 (s, 1H), 7.56 (s, 1H), 7.05 (s, 1H), 6.78 (d, <i>J</i> = 7.9 Hz, 1H), 6.40 (d, <i>J</i> = 7.8 Hz, 1H), 5.73 (d, <i>J</i> = 8.9 Hz, 0H), 5.64 (d, <i>J</i> = 18.8 Hz, 2H), 5.55 (d, <i>J</i> = 17.0 Hz, 1H), 4.30 (s, 1H), 3.84 (s, 1H), 3.76 – 3.56 (m, 3H), 3.29 (t, <i>J</i> = 6.5 Hz, 2H), 3.21 – 3.15 (m, 1H), 2.89 (s, 1H), 2.73 (s, 1H), 2.55 (s, 1H), 2.03 (d, <i>J</i> = 9.1 Hz, 2H), 1.74 (t, <i>J</i> = 9.7 Hz, 2H), 1.62 (t, <i>J</i> = 10.0 Hz, 2H), 1.52 (dt, <i>J</i> = 16.0, 8.1 Hz, 2H), 1.37 (dt, <i>J</i> = 33.8, 7.5 Hz, 2H), 1.09 – 1.02 (m, 2H), 0.75 (t, <i>J</i> = 7.3 Hz, 3H)                                            |
| 842       | 3             | 28.3                        | 484.3                    | 0.77      | δ 7.74 (s, 1H), 7.41 (s, 1H), 7.08 (s, 1H), 6.92 (d, <i>J</i> = 7.9 Hz, 1H), 6.71 (d, <i>J</i> = 7.9 Hz, 1H), 5.74 (d, <i>J</i> = 16.7 Hz, 1H), 5.65 (d, <i>J</i> = 16.5 Hz, 1H), 4.49 (s, 1H), 4.07 (s, 5H), 4.05 (s, 9H), 3.78 (s, 3H), 3.38 (t, <i>J</i> = 6.1 Hz, 4H), 2.89 (s, 1H), 2.83 (s, 1H), 2.55 (s, 13H), 1.71 (s, 2H), 1.65 (d, <i>J</i> = 6.2 Hz, 1H), 1.50 – 1.44 (m, 2H), 1.18 – 1.00 (m, 4H), 0.76 (t, <i>J</i> = 7.3 Hz, 3H)                                                                                                                                                                                                          |

| Tabla B   |               |                             |                          |           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|-----------|---------------|-----------------------------|--------------------------|-----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Comp. No. | Procedimiento | hTLR7 EC <sub>50</sub> (nM) | LC/MS [M+H] <sup>+</sup> | RT: (min) | <sup>1</sup> H RMN (500 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 843       | 3             | 55.9                        | 481.2                    | 1.1       | δ 7.57 (s, 1H), 7.01 (s, 1H), 6.78 (d, <i>J</i> = 7.9 Hz, 1H), 6.37 (d, <i>J</i> = 7.7 Hz, 1H), 5.74 – 5.66 (m, 1H), 5.64 (s, 2H), 5.55 (d, <i>J</i> = 17.1 Hz, 1H), 4.31 (s, 1H), 3.84 (s, 2H), 3.63 (d, <i>J</i> = 8.6 Hz, 7H), 3.60 (d, <i>J</i> = 6.0 Hz, 6H), 3.37 (s, 1H), 3.30 (q, <i>J</i> = 7.9, 7.1 Hz, 2H), 3.16 (d, <i>J</i> = 12.7 Hz, 1H), 2.81 (s, 1H), 2.70 (d, <i>J</i> = 10.3 Hz, 1H), 2.55 (s, 7H), 1.81 (s, 3H), 1.63 (dd, <i>J</i> = 13.1, 6.4 Hz, 1H), 1.51 (dd, <i>J</i> = 13.3, 6.3 Hz, 2H), 1.41 (d, <i>J</i> = 6.8 Hz, 1H), 1.34 (t, <i>J</i> = 7.4 Hz, 1H), 1.03 (d, <i>J</i> = 8.0 Hz, 2H), 0.75 (t, <i>J</i> = 7.3 Hz, 3H) |
| 844       | 3             | 4.6                         | 517.4                    | 0.73      | δ 8.27 (s, 1H), 8.20 (d, <i>J</i> = 5.0 Hz, 1H), 7.91 (s, 0H), 7.58 (s, 1H), 7.07 – 7.01 (m, 2H), 6.82 (d, <i>J</i> = 7.8 Hz, 1H), 6.41 (d, <i>J</i> = 7.7 Hz, 1H), 5.78 (d, <i>J</i> = 8.5 Hz, 1H), 5.71 – 5.64 (m, 2H), 5.55 (d, <i>J</i> = 17.1 Hz, 1H), 4.30 (s, 1H), 3.80 (d, <i>J</i> = 30.8 Hz, 4H), 3.60 (s, 1H), 3.53 (s, 1H), 3.35 – 3.29 (m, 2H), 2.88 (s, 1H), 2.77 (d, <i>J</i> = 5.9 Hz, 2H), 2.72 (s, 1H), 2.66 (d, <i>J</i> = 6.5 Hz, 2H), 2.55 (s, 1H), 1.90 (s, 4H), 1.63 (d, <i>J</i> = 8.6 Hz, 1H), 1.51 (s, 1H), 1.39 (s, 1H), 1.35 – 1.28 (m, 1H), 1.01 (d, <i>J</i> = 12.4 Hz, 2H), 0.71 (t, <i>J</i> = 7.4 Hz, 3H)              |
| 845       | 2             | 21.2                        | 439.0                    | 0.92      | δ 8.29 (s, 1H), 7.76 (s, 1H), 7.17 (s, 1H), 6.98 (d, <i>J</i> = 7.8 Hz, 1H), 6.84 (d, <i>J</i> = 7.6 Hz, 1H), 5.73 (s, 2H), 4.19 (s, 1H), 3.78 (s, 2H), 3.55 (s, 1H), 3.40 (d, <i>J</i> = 33.6 Hz, 1H), 3.23 (s, 1H), 3.16 (s, 1H), 2.99 (s, 1H), 2.55 (s, 9H), 2.05 (s, 1H), 1.60 – 1.53 (m, 2H), 1.25 (q, <i>J</i> = 7.4 Hz, 2H), 0.87 (t, <i>J</i> = 7.4 Hz, 3H)                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 846       | 5             | 198                         | 525.2                    | 0.96      | δ 7.82 (s, 1H), 7.76 (s, 1H), 7.58 (d, <i>J</i> = 8.6 Hz, 1H), 7.20 (s, 1H), 6.99 (d, <i>J</i> = 8.3 Hz, 1H), 6.79 (d, <i>J</i> = 7.7 Hz, 1H), 5.82 (d, <i>J</i> = 16.4 Hz, 1H), 5.75 (d, <i>J</i> = 16.6 Hz, 1H), 4.49 (s, 1H), 4.13 (s, 2H), 3.95 – 3.88 (m, 2H), 3.80 – 3.76 (m, 2H), 3.56 (d, <i>J</i> = 29.7 Hz, 1H), 3.29 (t, <i>J</i> = 11.8 Hz, 3H), 2.98 (d, <i>J</i> = 6.8 Hz, 2H), 2.92 (s, 1H), 2.51 (s, 8H), 1.99 (d, <i>J</i> = 11.9 Hz, 2H), 1.78 (s, 3H), 1.72 (d, <i>J</i> = 8.7 Hz, 1H), 1.62 – 1.49 (m, 4H), 1.16 (t, <i>J</i> = 7.1 Hz, 3H), 0.82 (t, <i>J</i> = 7.2 Hz, 3H)                                                        |

| Tabla B   |               |                             |                          |           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|-----------|---------------|-----------------------------|--------------------------|-----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Comp. No. | Procedimiento | hTLR7 EC <sub>50</sub> (nM) | LC/MS [M+H] <sup>+</sup> | RT: (min) | <sup>1</sup> H RMN (500 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 847       | 5             | 187                         | 539.1                    | 0.81      | δ 7.89 (d, <i>J</i> = 6.5 Hz, 1H), 7.76 (d, <i>J</i> = 1.2 Hz, 1H), 7.64 (d, <i>J</i> = 8.6 Hz, 1H), 7.18 (d, <i>J</i> = 11.6 Hz, 1H), 7.06 – 6.98 (m, 1H), 6.83 (d, <i>J</i> = 7.8 Hz, 1H), 5.81 (d, <i>J</i> = 16.1 Hz, 1H), 5.74 (d, <i>J</i> = 18.4 Hz, 1H), 4.50 (s, 1H), 4.09 (s, 2H), 3.83 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz, 2H), 3.79 – 3.72 (m, 9H), 3.69 (s, 1H), 3.47 (t, <i>J</i> = 11.9 Hz, 2H), 2.98 (d, <i>J</i> = 5.8 Hz, 2H), 1.85 (s, 2H), 1.78 (s, 3H), 1.73 (d, <i>J</i> = 12.3 Hz, 4H), 1.53 (dt, <i>J</i> = 13.9, 7.5 Hz, 2H), 1.48 (s, 3H), 1.18 (q, <i>J</i> = 7.6 Hz, 2H), 0.82 (t, <i>J</i> = 7.3 Hz, 3H) |
| 848       | 3             | 33.0                        | 497.9                    | 1.02      | δ 7.57 (s, 1H), 7.12 (s, 1H), 6.86 (d, <i>J</i> = 7.8 Hz, 1H), 6.43 (d, <i>J</i> = 7.8 Hz, 1H), 5.74 (d, <i>J</i> = 8.2 Hz, 1H), 5.69 – 5.62 (m, 3H), 5.57 (d, <i>J</i> = 16.9 Hz, 1H), 4.32 (s, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.74 – 3.66 (m, 3H), 3.55 (s, 4H), 3.29 (t, <i>J</i> = 6.5 Hz, 2H), 2.55 (s, 5H), 1.91 (s, 2H), 1.65 (dd, <i>J</i> = 13.3, 6.0 Hz, 1H), 1.57 (s, 2H), 1.49 (s, 2H), 1.39 (dq, <i>J</i> = 22.4, 7.8 Hz, 3H), 1.17 (s, 3H), 1.07 (q, <i>J</i> = 7.6 Hz, 2H), 0.78 (t, <i>J</i> = 7.3 Hz, 3H)                                                                                                           |
| 849       | 13            | 2030                        | 440.1                    | 0.97      | δ 8.45 (d, <i>J</i> =1.5 Hz, 1H), 7.73 (dd, <i>J</i> =8.1, 2.0 Hz, 1H), 7.61 (br t, <i>J</i> =4.9 Hz, 1H), 7.55 (s, 1H), 7.18 (d, <i>J</i> =7.9 Hz, 1H), 5.70 (s, 2H), 5.65 (s, 2H), 3.91 (s, 1H), 3.51 - 3.31 (m, 6H), 2.48 - 2.08 (m, 8H), 1.65 - 1.51 (m, 2H), 1.37 - 1.26 (m, 2H), 0.91 (t, <i>J</i> =7.3 Hz, 3H)                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 850       | 13            | 1616                        | 396.2                    | 1.06      | δ 8.45 (d, <i>J</i> =1.5 Hz, 1H), 7.74 (dd, <i>J</i> =7.8, 2.0 Hz, 1H), 7.64 - 7.57 (m, 1H), 7.55 (s, 1H), 7.18 (d, <i>J</i> =7.9 Hz, 1H), 5.70 (s, 2H), 5.64 (s, 2H), 2.71 (br t, <i>J</i> =4.4 Hz, 4H), 2.30 (br s, 4H), 1.66 - 1.51 (m, 2H), 1.37 - 1.26 (m, 2H), 0.91 (t, <i>J</i> =7.3 Hz, 3H)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 851       | 13            | 1770                        | 381.1                    | 1.38      | δ 8.52 (s, 1H), 7.96 (br d, <i>J</i> =4.0 Hz, 1H), 7.83 (dd, <i>J</i> =8.0, 1.7 Hz, 1H), 7.61 (s, 1H), 7.25 (d, <i>J</i> =8.0 Hz, 1H), 6.19 (br d, <i>J</i> =2.1 Hz, 2H), 5.76 (s, 2H), 3.86 (br s, 2H), 3.56 - 3.39 (m, 2H), 2.68 (br s, 4H), 1.76 (br s, 4H), 1.59 (quin, <i>J</i> =7.3 Hz, 2H), 1.36 - 1.25 (m, 2H), 0.90 (t, <i>J</i> =7.4 Hz, 3H)                                                                                                                                                                                                                                                                   |

| Tabla B   |               |                             |                          |           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|-----------|---------------|-----------------------------|--------------------------|-----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Comp. No. | Procedimiento | hTLR7 EC <sub>50</sub> (nM) | LC/MS [M+H] <sup>+</sup> | RT: (min) | <sup>1</sup> H RMN (500 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 852       | 13            | 3170                        | 408.0                    | 1.24      | δ 8.52 (s, 1H), 7.90 (dd, <i>J</i> =8.1, 1.7 Hz, 1H), 7.78 (s, 1H), 7.48 (d, <i>J</i> =7.9 Hz, 1H), 5.86 (s, 2H), 4.09 - 3.88 (m, 2H), 3.65 - 3.55 (m, 2H), 3.23 - 3.08 (m, 4H), 3.07 - 2.91 (m, 2H), 2.18 (br d, <i>J</i> =10.7 Hz, 1H), 1.82 (br d, <i>J</i> =11.3 Hz, 1H), 1.64 (quin, <i>J</i> =7.2 Hz, 2H), 1.32 (sxt, <i>J</i> =7.4 Hz, 2H), 0.91 (t, <i>J</i> =7.3 Hz, 3H).                                                           |
| 853       | 9             | 420                         | 397.9                    | 1.35      | δ 8.46 (br s, 1H), 7.88 (br s, 1H), 7.81 (s, 1H), 7.40 (d, <i>J</i> =11.2 Hz, 1H), 7.27 (br d, <i>J</i> =7.6 Hz, 1H), 7.06 (t, <i>J</i> =7.9 Hz, 1H), 5.90 (s, 2H), 4.04 (s, 2H), 3.67 (br t, <i>J</i> =8.1 Hz, 1H), 3.58 (br d, <i>J</i> =6.1 Hz, 2H), 2.19 - 2.10 (m, 4H), 2.08 (s, 1H), 1.85 - 1.69 (m, 2H), 1.60 (quin, <i>J</i> =7.3 Hz, 2H), 1.35 - 1.21 (m, 2H), 0.90 (t, <i>J</i> =7.3 Hz, 3H)                                       |
| 854       | 2             | 46.8                        | 437.0                    | 0.71      | δ 7.55 (s, 1H), 6.99 (s, 1H), 6.80 - 6.74 (m, 1H), 6.43 (d, <i>J</i> = 7.7 Hz, 1H), 5.65 (s, 1H), 5.59 (s, 2H), 3.82 (s, 3H), 3.63 (s, 1H), 3.39 (d, <i>J</i> = 6.3 Hz, 2H), 3.19 (d, <i>J</i> = 13.3 Hz, 1H), 2.91 - 2.83 (m, 1H), 2.75 - 2.67 (m, 1H), 2.55 (s, 5H), 1.81 (d, <i>J</i> = 1.7 Hz, 5H), 1.57 (d, <i>J</i> = 10.1 Hz, 1H), 1.46 (p, <i>J</i> = 7.2 Hz, 2H), 1.17 (h, <i>J</i> = 7.5 Hz, 2H), 0.83 (t, <i>J</i> = 7.3 Hz, 3H). |
| 855       | 11            | 640                         | 411.1                    | 1.36      | δ 8.03 (t, <i>J</i> = 5.4 Hz, 1H), 8.02 (s, 1H), 7.51 (s, 1H), 7.46 (s, 1H), 5.65 (s, 2H), 5.60 (s, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.64 (s, 1H), 3.18 (s, 2H), 3.16 - 3.10 (m, 1H), 2.10 - 1.99 (m, 2H), 1.92 (s, 3H), 1.76 - 1.45 (m, 6H), 1.39 (h, <i>J</i> = 7.4 Hz, 2H), 0.94 (t, <i>J</i> = 7.4 Hz, 3H)                                                                                                                                             |
| 856       | 11            | 1160                        | 441.3                    | 1.28      | δ 8.06 (d, <i>J</i> = 1.6 Hz, 1H), 7.56 (d, <i>J</i> = 1.5 Hz, 1H), 7.47 (s, 1H), 5.65 (d, <i>J</i> = 6.9 Hz, 3H), 3.88 (s, 2H), 3.82 (d, <i>J</i> = 12.6 Hz, 3H), 3.30 - 3.20 (m, 2H), 3.18 (s, 1H), 3.00 (s, 1H), 2.64 (s, 1H), 2.55 (s, 3H), 1.92 (s, 1H), 1.78 (d, <i>J</i> = 12.8 Hz, 2H), 1.64 (p, <i>J</i> = 7.2 Hz, 2H), 1.39 (h, <i>J</i> = 7.4 Hz, 2H), 1.34 - 1.22 (m, 2H), 0.94 (t, <i>J</i> = 7.4 Hz, 3H).                      |
| 857       | 4 6           | 11.5                        | 519.9                    | 1.48      | δ 8.22 (br t, <i>J</i> =6.0 Hz, 1H), 7.76 (s, 1H), 7.55 (d, <i>J</i> =8.5 Hz, 2H), 7.05 (d, <i>J</i> =8.5 Hz, 2H), 6.86 (d, <i>J</i> =8.2 Hz, 1H), 6.78 (d, <i>J</i> =2.1 Hz, 1H), 6.48 (dd, <i>J</i> =8.2, 2.1 Hz, 1H), 5.71 (s, 2H), 4.14 (s, 2H), 3.74 (s, 3H), 3.59 (q, <i>J</i> =6.5 Hz, 2H), 2.76 (s, 2H), 1.59 (quin, <i>J</i> =7.3 Hz, 2H), 1.34 - 1.23 (m, 2H), 1.17 (s, 6H), 0.90 (t, <i>J</i> =7.5 Hz, 3H)                        |

| Tabla B   |               |                             |                          |           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|-----------|---------------|-----------------------------|--------------------------|-----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Comp. No. | Procedimiento | hTLR7 EC <sub>50</sub> (nM) | LC/MS [M+H] <sup>+</sup> | RT: (min) | <sup>1</sup> H RMN (500 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 858       | 4 6           | 10.8                        | 532.2                    | 1.38      | δ 7.55 (s, 1H), 7.34 (d, <i>J</i> =8.2 Hz, 2H), 6.93 (d, <i>J</i> =8.5 Hz, 2H), 6.75 (d, <i>J</i> =1.8 Hz, 1H), 6.52 (d, <i>J</i> =8.2 Hz, 1H), 6.46 (br t, <i>J</i> =5.2 Hz, 1H), 6.39 (dd, <i>J</i> =8.2, 2.1 Hz, 1H), 5.64 (s, 2H), 5.60 (s, 2H), 3.71 (s, 3H), 3.42 (br d, <i>J</i> =5.8 Hz, 2H), 3.26 (td, <i>J</i> =11.4, 2.0 Hz, 4H), 2.63 - 2.57 (m, 1H), 1.80 - 1.73 (m, 2H), 1.55 - 1.46 (m, 2H), 1.32 - 1.18 (m, 4H), 0.87 (t, <i>J</i> =7.3 Hz, 3H).                                     |
| 859       | 4 6           | 13.1                        | 531.9                    | 1.41      | δ 7.55 (s, 1H), 7.26 (d, <i>J</i> =8.5 Hz, 2H), 6.92 (d, <i>J</i> =8.5 Hz, 2H), 6.76 (d, <i>J</i> =2.1 Hz, 1H), 6.53 (d, <i>J</i> =8.2 Hz, 1H), 6.47 (br t, <i>J</i> =4.0 Hz, 1H), 6.40 (dd, <i>J</i> =8.5, 2.1 Hz, 1H), 5.64 (s, 2H), 5.60 (s, 2H), 3.80 (s, 3H), 3.46 - 3.35 (m, 1H), 2.69 - 2.60 (m, 2H), 2.02 (br t, <i>J</i> =10.4 Hz, 2H), 1.72 - 1.64 (m, 2H), 1.50 (quin, <i>J</i> =7.2 Hz, 2H), 1.42 - 1.33 (m, 2H), 1.22 (dq, <i>J</i> =14.8, 7.4 Hz, 2H), 0.86 (t, <i>J</i> =7.3 Hz, 3H). |
| 860       | 4 6           | 19.5                        | 502.2                    | 1.2       | δ 7.55 (s, 1H), 7.32 (d, <i>J</i> =8.4 Hz, 2H), 6.93 (d, <i>J</i> =8.4 Hz, 2H), 6.75 (d, <i>J</i> =1.9 Hz, 1H), 6.55 - 6.43 (m, 2H), 6.39 (dd, <i>J</i> =8.5, 2.0 Hz, 1H), 5.65 (s, 2H), 5.60 (s, 2H), 3.79 (s, 3H), 3.61 (s, 2H), 3.18 (br d, <i>J</i> =4.7 Hz, 1H), 2.06 (br d, <i>J</i> =7.7 Hz, 2H), 1.78 - 1.46 (m, 6H), 1.27 - 1.18 (m, 2H), 0.87 (t, <i>J</i> =7.3 Hz, 3H).                                                                                                                   |
| 861       | 3             | 1.2                         | 470.3                    | 0.82      | δ 7.90 - 7.82 (m, 2H), 7.78 (s, 1H), 7.62 - 7.55 (m, 1H), 7.17 (s, 1H), 6.95 (br d, <i>J</i> =7.0 Hz, 1H), 6.68 (d, <i>J</i> =7.6 Hz, 1H), 5.84 - 5.70 (m, 2H), 4.64 - 4.55 (m, 1H), 4.54 - 4.48 (m, 1H), 4.32 (s, 2H), 4.25 - 4.21 (m, 2H), 4.20 (br s, 1H), 3.91 (br d, <i>J</i> =6.3 Hz, 2H), 3.80 (s, 3H), 3.23 (s, 3H), 1.75 - 1.68 (m, 2H), 1.57 - 1.48 (m, 2H), 1.15 (sxt, <i>J</i> =7.4 Hz, 2H), 0.81 (t, <i>J</i> =7.3 Hz, 3H).                                                             |
| 862       | 3             | 11.0                        | 476.04                   | 0.86      | δ 7.57 - 7.55 (m, 1H), 6.98 (s, 1H), 6.76 (d, <i>J</i> =7.7 Hz, 1H), 6.38 (d, <i>J</i> =8.0 Hz, 1H), 5.71 (br d, <i>J</i> =8.5 Hz, 1H), 5.68 - 5.62 (m, 3H), 5.59 - 5.52 (m, 1H), 4.45 - 4.37 (m, 1H), 4.36 - 4.27 (m, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.66 (s, 2H), 3.56 (br t, <i>J</i> =12.5 Hz, 4H), 3.33 - 3.28 (m, <i>J</i> =6.3 Hz, 2H), 1.68 - 1.58 (m, 1H), 1.54 - 1.46 (m, 1H), 1.45 - 1.30 (m, 2H), 1.09 - 1.00 (m, 2H), 0.75 (t, <i>J</i> =7.4 Hz, 3H)                                                |

| Tabla B   |               |                             |                          |           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|-----------|---------------|-----------------------------|--------------------------|-----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Comp. No. | Procedimiento | hTLR7 EC <sub>50</sub> (nM) | LC/MS [M+H] <sup>+</sup> | RT: (min) | <sup>1</sup> H RMN (500 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| 863       | 3             | 9.5                         | 456.2                    | 0.77      | δ 7.58 - 7.56 (m, 1H), 6.94 (s, 1H), 6.71 (br d, <i>J</i> =7.6 Hz, 1H), 6.36 (d, <i>J</i> =7.7 Hz, 1H), 5.70 - 5.65 (m, 2H), 5.65 (s, 2H), 5.58 - 5.52 (m, 1H), 5.35 - 5.29 (m, 1H), 4.32 (br dd, <i>J</i> =8.3, 4.3 Hz, 1H), 4.16 (br d, <i>J</i> =5.1 Hz, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.50 (s, 2H), 3.48 - 3.46 (m, 2H), 3.33 - 3.31 (m, 2H), 2.72 (br t, <i>J</i> =6.0 Hz, 2H), 1.68 - 1.59 (m, 1H), 1.55 - 1.46 (m, 1H), 1.45 - 1.38 (m, 1H), 1.37 - 1.30 (m, 1H), 1.09 - 0.99 (m, 2H), 0.76 (t, <i>J</i> =7.2 Hz, 3H) |
| 864       | 7             | 216                         | 426.17                   | 0.8       | δ 7.56 - 7.52 (m, 1H), 7.01 (s, 1H), 6.77 (br d, <i>J</i> =7.6 Hz, 1H), 6.57 (br d, <i>J</i> =7.6 Hz, 1H), 5.66 (s, 2H), 5.55 (s, 2H), 3.83 (s, 3H), 3.63 - 3.54 (m, 2H), 3.19 - 3.11 (m, 1H), 2.07 - 2.00 (m, 2H), 1.75 - 1.65 (m, 2H), 1.65 - 1.56 (m, 1H), 1.56 - 1.46 (m, 1H), 1.05 (t, <i>J</i> =6.9 Hz, 3H)                                                                                                                                                                                                 |
| 865       | 7             | 959                         | 412.2                    | 0.90      | δ 7.56 - 7.52 (m, 1H), 6.99 (s, 1H), 6.76 (br d, <i>J</i> =7.6 Hz, 1H), 6.62 - 6.53 (m, 1H), 5.65 (s, 2H), 5.54 (s, 2H), 3.82 (s, 3H), 3.58 (q, <i>J</i> =5.8 Hz, 1H), 3.21 (s, 2H), 3.13 - 3.05 (m, 1H), 2.06 - 1.98 (m, 2H), 1.70 - 1.61 (m, 2H), 1.60 - 1.55 (m, 1H), 1.54 - 1.45 (m, 1H)                                                                                                                                                                                                                      |
| 866       | 8             | 19.5                        | 510.23                   | 1.23      | δ 9.28 - 9.02 (m, 1H), 7.84 - 7.77 (m, 1H), 7.75 (s, 1H), 7.68 - 7.59 (m, 1H), 7.19 (s, 1H), 6.96 (d, <i>J</i> =7.7 Hz, 1H), 6.77 (d, <i>J</i> =7.7 Hz, 1H), 5.80 - 5.66 (m, 2H), 4.60 - 4.49 (m, 1H), 3.99 (br s, 2H), 3.78 (s, 3H), 3.42 - 3.40 (m, 2H), 2.99 - 2.97 (m, 1H), 2.22 (br d, <i>J</i> =1.7 Hz, 1H), 2.07 - 2.00 (m, 1H), 1.84 - 1.80 (m, 1H), 1.76 - 1.71 (m, 1H), 1.57 - 1.51 (m, 1H), 1.21 - 1.13 (m, 2H), 0.83 (t, <i>J</i> =7.3 Hz, 3H), 0.80 - 0.75 (m, 9H)                                   |
| 867       | 12            | 302                         | 470.4                    | 0.71      | δ 8.96 (s, 1H), 7.85 (s, 1H), 7.78 (s, 1H), 7.73 (d, <i>J</i> = 8.1 Hz, 1H), 7.19 (d, <i>J</i> = 19.6 Hz, 1H), 7.02 (d, <i>J</i> = 7.7 Hz, 1H), 6.84 (d, <i>J</i> = 7.7 Hz, 1H), 5.82 - 5.70 (m, 2H), 4.46 (m, 1H), 4.16 (s, 2H), 3.94 (d, <i>J</i> = 11.4 Hz, 2H), 3.80 (s, 2H), 3.56 (s, 1H), 3.31 (t, <i>J</i> = 11.7 Hz, 3H), 2.00 (d, <i>J</i> = 12.5 Hz, 2H), 1.76 (p, <i>J</i> = 6.9 Hz, 2H), 1.62 (tt, <i>J</i> = 13.2, 5.8 Hz, 4H), 0.80 (t, <i>J</i> = 7.4 Hz, 3H)                                      |

| Tabla B   |               |                             |                          |           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|-----------|---------------|-----------------------------|--------------------------|-----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Comp. No. | Procedimiento | hTLR7 EC <sub>50</sub> (nM) | LC/MS [M+H] <sup>+</sup> | RT: (min) | <sup>1</sup> H RMN (500 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 868       | 3             | 1.4                         | 498.21                   | 0.95      | δ 7.59 - 7.51 (m, 1H), 6.94 (s, 1H), 6.79 - 6.66 (m, 1H), 6.36 (d, <i>J</i> =7.7 Hz, 1H), 5.69 - 5.65 (m, 1H), 5.63 (s, 2H), 5.55 - 5.50 (m, 1H), 4.34 - 4.27 (m, 1H), 4.06 (quin, <i>J</i> =6.1 Hz, 1H), 3.84 (s, 3H), 3.51 - 3.49 (m, 4H), 3.30 (m, 2H), 2.78 - 2.73 (m, 2H), 1.90 (s, 1H), 1.66 - 1.59 (m, 1H), 1.54 - 1.45 (m, 1H), 1.43 - 1.36 (m, 1H), 1.36 - 1.29 (m, 1H), 1.05 - 1.03 (m, 2H), 1.02 (s, 3H), 1.01 (s, 3H), 0.74 (t, <i>J</i> =7.3 Hz, 3H)                  |
| 869       | 12            | 897                         | 484.1                    | 1.13      | δ 7.59 (s, 1H), 7.08 (s, 1H), 6.79 (d, <i>J</i> = 7.7 Hz, 1H), 6.30 (d, <i>J</i> = 7.8 Hz, 1H), 5.67 (d, <i>J</i> = 17.3 Hz, 1H), 5.62 (d, <i>J</i> = 10.8 Hz, 2H), 5.55 (d, <i>J</i> = 17.2 Hz, 1H), 5.43 (d, <i>J</i> = 8.9 Hz, 1H), 4.16 (s, 1H), 3.89 (m, 4H), 3.82 (s, 3H), 3.76 (s, 1H), 3.70 (s, 1H), 3.25 - 3.15 (m, 4H), 1.88 (s, 1H), 1.73 (m, 3H), 1.62 (m, 2H), 1.52 (m, 1H), 1.23 (m, 2H), 0.67 (dd, <i>J</i> = 6.9, 2.8 Hz, 6H)                                      |
| 870       | 9             | 1796                        | 457.3                    | 1.23      | δ 8.45 (br t, <i>J</i> =5.6 Hz, 1H), 7.81 (s, 1H), 7.21 (d, <i>J</i> =11.0 Hz, 1H), 7.16 - 7.07 (m, 1H), 6.96 (t, <i>J</i> =7.9 Hz, 1H), 5.87 (s, 2H), 3.72 (t, <i>J</i> =5.2 Hz, 2H), 3.20 - 3.10 (m, 2H), 2.55 (s, 4H), 1.63 - 1.50 (m, 2H), 1.29 - 1.18 (m, 2H), 0.87 (t, <i>J</i> =7.3 Hz, 3H)                                                                                                                                                                                 |
| 871       | 12            | 61                          | 469.9                    | 1.04      | δ 7.57 (s, 1H), 7.08 (s, 1H), 6.81 (d, <i>J</i> = 7.7 Hz, 1H), 6.48 (d, <i>J</i> = 7.7 Hz, 1H), 5.71 (d, <i>J</i> = 16.9 Hz, 1H), 5.63 (s, 2H), 5.48 (d, <i>J</i> = 16.9 Hz, 1H), 4.30 - 4.18 (m, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.80 (d, <i>J</i> = 12.0 Hz, 2H), 3.71 (s, 2H), 3.60 - 3.52 (m, 1H), 3.45 - 3.33 (m, 1H), 3.22 (t, <i>J</i> = 11.7 Hz, 1H), 1.83 - 1.70 (m, 3H), 1.49 (m, 1H), 1.34 - 1.19 (m, 4H), 1.09 - 1.03 (m, 2H), 1.03 - 0.94 (m, 2H), 0.76 (t, <i>J</i> = 7.3 Hz, 3H) |
| 872       | 3             | 32.7                        | 454.16                   | 1.09      | δ 7.57 - 7.54 (m, 1H), 7.05 - 7.01 (m, 1H), 6.76 (d, <i>J</i> =7.7 Hz, 1H), 6.40 - 6.37 (m, 1H), 5.66 - 5.64 (m, 1H), 5.63 - 5.61 (m, 2H), 5.57 - 5.52 (m, 1H), 4.35 - 4.27 (m, 1H), 3.84 (s, 3H), 3.56 (s, 2H), 3.29 (br t, <i>J</i> =6.5 Hz, 2H), 3.18 - 3.06 (m, 2H), 2.07 - 2.00 (m, 2H), 1.90 (s, 2H), 1.71 - 1.64 (m, 2H), 1.63 - 1.57 (m, 2H), 1.54 - 1.46 (m, 2H), 1.44 - 1.37 (m, 1H), 1.36 - 1.30 (m, 1H), 1.10 - 1.01 (m, 2H), 0.76 (t, <i>J</i> =7.3 Hz, 3H)           |

| Tabla B   |               |                             |                          |           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|-----------|---------------|-----------------------------|--------------------------|-----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Comp. No. | Procedimiento | hTLR7 EC <sub>50</sub> (nM) | LC/MS [M+H] <sup>+</sup> | RT: (min) | <sup>1</sup> H RMN (500 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 873       | 10            | 253                         | 366.3                    | 1.37      | δ 7.57 (s, 1H), 7.03 (s, 1H), 6.82 (d, <i>J</i> =7.9 Hz, 1H), 6.59 (br s, 1H), 6.48 (d, <i>J</i> =7.7 Hz, 1H), 5.78 (br s, 2H), 5.63 (s, 2H), 3.98 (s, 2H), 3.84 (s, 3H), 3.38 (br. m, 2H), 1.48 (quin, <i>J</i> =7.3 Hz, 2H), 1.25 - 1.12 (m, 2H), 0.85 (t, <i>J</i> =7.3 Hz, 3H)                                                                                                                                                                                           |
| 874       | 14            | 2048                        | 371.15                   | 1.07      | δ 7.32 - 7.17 (m, 2H), 6.96 (br d, <i>J</i> =7.2 Hz, 2H), 6.48 - 6.39 (m, 1H), 6.39 - 6.09 (m, 1H), 5.85 - 5.69 (m, 2H), 5.39 - 5.06 (m, 1H), 4.63 - 4.50 (m, 1H), 4.46 - 4.40 (m, 2H), 4.39 - 4.31 (m, 1H), 3.36 - 3.32 (m, 2H), 1.73 - 1.58 (m, 2H), 1.41 (br d, <i>J</i> =7.1 Hz, 2H), 1.08 - 0.89 (m, 2H), 0.83 - 0.66 (m, 3H)                                                                                                                                           |
| 875       | 14            | 58                          | 423.91                   | 1.03      | δ 7.82 - 7.78 (m, 1H), 7.42 (br d, <i>J</i> =8.5 Hz, 1H), 7.37 (br d, <i>J</i> =7.9 Hz, 2H), 7.01 (br d, <i>J</i> =8.2 Hz, 2H), 5.85 (s, 2H), 4.47 - 4.40 (m, 1H), 3.63 - 3.54 (m, 1H), 3.28 (br t, <i>J</i> =6.3 Hz, 2H), 2.16 - 2.09 (m, 2H), 2.08 - 2.00 (m, 2H), 1.74 (br dd, <i>J</i> =15.3, 8.9 Hz, 2H), 1.70 - 1.62 (m, 2H), 1.50 - 1.40 (m, 2H), 1.06 - 0.94 (m, 2H), 0.74 (t, <i>J</i> =7.3 Hz, 3H)                                                                 |
| 876       | 14            | 1270                        | 453.99                   | 0.98      | δ 7.63 - 7.56 (m, 1H), 7.26 (br d, <i>J</i> =7.9 Hz, 2H), 6.94 (br d, <i>J</i> =7.9 Hz, 2H), 5.97 (br d, <i>J</i> =8.2 Hz, 1H), 5.69 (br d, <i>J</i> =7.0 Hz, 2H), 5.59 (s, 2H), 4.35 - 4.26 (m, 1H), 3.79 (br d, <i>J</i> =11.6 Hz, 2H), 3.69 (s, 1H), 3.28 (br t, <i>J</i> =6.3 Hz, 2H), 3.25 - 3.16 (m, 2H), 2.67 - 2.58 (m, 1H), 1.79 - 1.70 (m, 2H), 1.67 - 1.52 (m, 2H), 1.44 - 1.35 (m, 2H), 1.31 - 1.20 (m, 2H), 1.08 - 0.96 (m, 2H), 0.75 (t, <i>J</i> =7.3 Hz, 3H) |
| 877       | 14            | 190                         | 440.23                   | 1.0       | δ 7.83 (s, 1H), 7.49 (br d, <i>J</i> =8.2 Hz, 1H), 7.39 (br d, <i>J</i> =8.2 Hz, 2H), 7.01 (br d, <i>J</i> =7.9 Hz, 2H), 5.89 (br s, 2H), 4.52 - 4.39 (m, 1H), 4.28 (s, 2H), 4.22 - 4.18 (m, 2H), 4.18 - 4.14 (m, 1H), 3.86 (br d, <i>J</i> =7.6 Hz, 1H), 3.33 - 3.26 (m, 1H), 3.26 - 3.21 (m, 1H), 3.20 (s, 3H), 1.70 - 1.63 (m, 2H), 1.50 - 1.40 (m, 2H), 1.05 - 0.94 (m, 2H), 0.74 (t, <i>J</i> =7.3 Hz, 3H)                                                              |

| Tabla B   |               |                             |                          |           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|-----------|---------------|-----------------------------|--------------------------|-----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Comp. No. | Procedimiento | hTLR7 EC <sub>50</sub> (nM) | LC/MS [M+H] <sup>+</sup> | RT: (min) | <sup>1</sup> H RMN (500 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| 878       | 14            | 1107                        | 426.19                   | 1.07      | δ 7.60 - 7.56 (m, 1H), 7.16 (br d, <i>J</i> =7.9 Hz, 2H), 6.91 (br d, <i>J</i> =8.2 Hz, 2H), 5.92 (br d, <i>J</i> =8.5 Hz, 1H), 5.75 - 5.63 (m, 2H), 5.59 (s, 2H), 4.35 - 4.26 (m, 1H), 4.17 - 4.10 (m, 1H), 3.33 - 3.27 (m, 1H), 3.16 (s, 1H), 2.98 (s, 1H), 2.70 (br t, <i>J</i> =6.1 Hz, 2H), 1.67 - 1.53 (m, 2H), 1.42 - 1.33 (m, 2H), 1.02 - 0.94 (m, 2H), 0.73 (t, <i>J</i> =7.3 Hz, 3H) |
| 879       | 14            | 370                         | 483.25                   | 1.13      | δ 7.92 - 7.87 (m, 1H), 7.86 (s, 1H), 7.55 (br d, <i>J</i> =8.3 Hz, 1H), 7.34 - 7.28 (m, 3H), 7.01 (d, <i>J</i> =8.0 Hz, 2H), 5.91 (br s, 2H), 4.54 - 4.44 (m, 1H), 3.72 - 3.70 (m, 2H), 3.64 (br s, 2H), 3.34 (dt, <i>J</i> =10.9, 5.6 Hz, 2H), 3.30 - 3.24 (m, 2H), 3.12 (br s, 2H), 1.71 (q, <i>J</i> =6.1 Hz, 2H), 1.54 - 1.44 (m, 2H), 1.09 - 0.96 (m, 2H), 0.77 (t, <i>J</i> =7.3 Hz, 3H) |

**[00285]** La descripción detallada anterior de la invención incluye pasajes que están relacionados principal o exclusivamente con partes o aspectos particulares de la invención. Debe entenderse que esto es por claridad y conveniencia, que una característica particular puede ser relevante en más que solo el pasaje en el que se divulga, y que la divulgación aquí incluye todas las combinaciones apropiadas de información que se encuentra en los diferentes pasajes. De manera similar, aunque las diversas figuras y descripciones en el presente documento se refieren a modalidades específicas de la invención, debe entenderse que cuando se describe una característica específica en el contexto de una figura o modalidad particular, dicha característica también se puede usar, en la medida apropiada, en el contexto de otra figura o modalidad, en combinación con otra característica, o en la invención en general.

**[00286]** Además, aunque la presente invención se ha descrito particularmente en términos de ciertas modalidades preferidas, la invención no se limita a tales modalidades preferidas. Más bien, el alcance de la invención se define por las reivindicaciones adjuntas.

## SIGLAS Y ABREVIATURAS

**[00287]** La Tabla C proporciona una lista de siglas y abreviaturas utilizadas en esta especificación, junto con sus significados.

| Tabla C                                            |                                                                                                                                                      |
|----------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| SIGLA O ABREVIATURA                                | SIGNIFICADO O DEFINICIÓN                                                                                                                             |
| AIBN                                               | Azobisisobutironitrilo                                                                                                                               |
| Aq.                                                | Acuoso                                                                                                                                               |
| Boc                                                | <i>t</i> -Butiloxicarbonilo                                                                                                                          |
| BOP                                                | Hexafluorofasfato (V) de (benzotriazol-1-iloxi)tris(dimetilamino)fosfonio                                                                            |
| DBU                                                | 1,8- diazabicyclo[5.4.0]undec- -7- eno                                                                                                               |
| DCM                                                | Diclorometano                                                                                                                                        |
| DIAD                                               | azodicarboxilato de diisopropilo                                                                                                                     |
| DIPEA, DIEA                                        | N, N-diisopropiletilamina, también conocida como base de Hünig                                                                                       |
| DMF                                                | N,N-dimetilformamida                                                                                                                                 |
| DMSO                                               | Dimetil sulfoxido                                                                                                                                    |
| Fmoc                                               | Fluorenilmetiloxicarbonil                                                                                                                            |
| HATU                                               | Hexafluorofosfato azabenzotriazol tetrametil uronio; hexafluorofosfato de 3-óxido de 1-[Bis(dimetilamino)metileno]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]piridinio |
| Base de Hunig                                      | Véase DIPEA, DIEA                                                                                                                                    |
| HPLC                                               | Cromatografía líquida de alta presión                                                                                                                |
| LCMS, LC-MS, LC/MS                                 | Cromatografía líquida- Espectrometría de masas                                                                                                       |
| MS                                                 | Espectrometría de masa                                                                                                                               |
| MsCl                                               | Cloruro de metanosilfonilo, cloruro de mesilo                                                                                                        |
| NBS                                                | N-Bromosuccinimida                                                                                                                                   |
| NMR                                                | resonancia magnética nuclear                                                                                                                         |
| PEG                                                | Poli(etilenglicol)                                                                                                                                   |
| PTFE                                               | Poli(tetrafluoretileno)                                                                                                                              |
| RT (en el contexto de las condiciones de reacción) | Temperatura ambiente, alrededor de 25 °C.                                                                                                            |
| RT (en el contexto de cromatografía líquida.)      | Tiempo de retención, en min.                                                                                                                         |
| Sat.                                               | Saturado                                                                                                                                             |
| Soln                                               | Solución                                                                                                                                             |
| TBDPS                                              | terc-Butildifenilsilil                                                                                                                               |
| TEAA                                               | Acetato de trietilamonio                                                                                                                             |
| TFA                                                | Ácido trifluoroacético                                                                                                                               |
| THF                                                | Tetrahidrofurano                                                                                                                                     |

## REFERENCIAS

**[00288]** A continuación se proporcionan citas completas de las siguientes referencias citadas de manera abreviada por el primer autor (o inventor) y citadas antes en esta especificación. Cada una de estas referencias se incorpora en la presente como referencia para todos los fines.

- 5 **[00289]** Akinbobuyi, *Tetrahedron Lett.* **2015**, 56, 458, “Facile syntheses of functionalized toll-like receptor 7 agonists”.
- [00290]** Akinbobuyi, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2016**, 26, 4246, “Synthesis and immunostimulatory activity of substituted TLR7 agonists.”
- [00291]** Barberis, EE.UU. 2012/0003298 A1 (2012).
- 10 **[00292]** Beesu, *J. Med. Chem.* **2017**, 60, 2084, “Identification of High-Potency Human TLR8 and Dual TLR7/TLR8 Agonists in Pyrimidine-2,4-diamines.”
- [00293]** Berghöfer, *J. Immunol.* **2007**, 178, 4072, “Natural and Synthetic TLR7 Ligands Inhibit CpG-A- and CpG-C-Oligodeoxynucleotide-Induced IFN- $\alpha$  Production.”
- [00294]** Bonfanti, EE.UU. 2014/0323441 A1 (2015) [2015a].
- 15 **[00295]** Bonfanti, EE.UU. 2015/0299221 A1 (2015) [2015b].
- [00296]** Bonfanti, EE.UU. 2016/0304531 A1 (2016).
- [00297]** Carson, EE.UU. 2013/0202629 A1 (2013).
- [00298]** Carson, EE.UU. 8,729,088 B2 (2014).
- [00299]** Carson, EE.UU. 9,050,376 B2 (2015).
- 20 **[00300]** Carson, EE.UU. 2016/0199499 A1 (2016).
- [00301]** Chan, *Bioconjugate Chem.* **2009**, 20, 1194, “Synthesis and Immunological Characterization of Toll-Like Receptor 7 Agonistic Conjugates.”
- [00302]** Chan, *Bioconjugate Chem.* **2011**, 22, 445, “Synthesis and Characterization of PEGylated Toll Like Receptor 7 Ligands.”
- 25 **[00303]** Chen, EE.UU. 7,919,498 B2 (2011).
- [00304]** Coe, EE.UU. 9,662,336 B2 (2017).

- [00305] Cortez y Va, *Medicinal Chem. Rev.* **2018**, 53, 481, “Recent Advances in Small-Molecule TLR7 Agonists for Drug Discovery”.
- [00306] Cortez, EE.UU. 2017/0121421 A1 (2017).
- [00307] Cortez, EE.UU. 9,944,649 B2 (2018).
- 5 [00308] Dellaria, WO 2007/028129 A1 (2007).
- [00309] Desai, EE.UU. 9,127,006 B2 (2015).
- [00310] Ding, WO 2016/107536 A1 (2016).
- [00311] Ding, EE.UU. 2017/0273983 A1 (2017) [2017a].
- [00312] Ding, WO 2017/076346 A1 (2017) [2017b].
- 10 [00313] Gadd, *Bioconjugate Chem.* **2015**, 26, 1743, “Targeted Activation of Toll-Like Receptors: Conjugation of a Toll-Like Receptor 7 Agonist to a Monoclonal Antibody Maintains Antigen Binding and Specificity.”
- [00314] Graupe, EE.UU. 8,993,755 B2 (2015).
- [00315] Embrechts, *J. Med. Chem.* **2018**, 61, 6236, “2,4-Diaminoquinazolines as Dual Toll
- 15 Like Receptor (TLR) 7/8 Modulators for the Treatment of Hepatitis B Virus.”
- [00316] Halcomb, EE.UU. 9,161,934 B2 (2015).
- [00317] Hashimoto, EE.UU. 2009/0118263 A1 (2009).
- [00318] He, EE.UU. 2019/0055246 A1 (2019) [2019a].
- [00319] He, EE.UU. 2019/0055247 A1 (2019) [2019b].
- 20 [00320] Hirota, EE.UU. 6,028,076 (2000).
- [00321] Holldack, EE.UU. 2012/0083473 A1 (2012).
- [00322] Isobe, EE.UU. 6,376,501 B1 (2002).
- [00323] Isobe, JP 2004137157 (2004).
- [00324] Isobe, *J. Med. Chem.* **2006**, 49 (6), 2088, “Synthesis and Biological Evaluation of
- 25 Novel 9-Substituted-8-hidroxiadenine Derivatives as Potent Interferon Inducers.”
- [00325] Isobe, EE.UU. 7,521,454 B2 (2009) [2009a].
- [00326] Isobe, EE.UU. 2009/0105212 A1 (2009) [2009b].

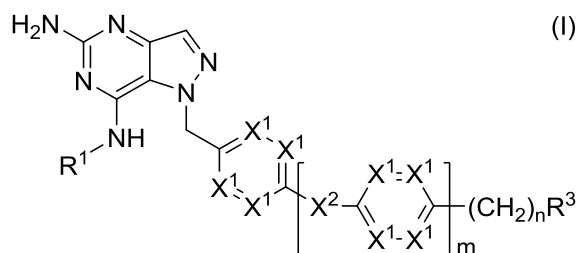
- [00327] Isobe, EE.UU. 2011/0028715 A1 (2011).
- [00328] Isobe, EE.UU. 8,148,371 B2 (2012).
- [00329] Jensen, WO 2015/036044 A1 (2015).
- [00330] Jones, EE.UU. 7,691,877 B2 (2010).
- 5 [00331] Jones, EE.UU. 2012/0302598 A1 (2012).
- [00332] Kasibhatla, EE.UU. 7,241,890 B2 (2007).
- [00333] Koga-Yamakawa, *Int. J. Cancer* **2013**, 132 (3), 580, "Intratracheal and oral administration of SM-276001: A selective TLR7 agonist, leads to antitumor efficacy in primary and metastatic models of cancer."
- 10 [00334] Li, EE.UU. 9,902,730 B2 (2018).
- [00335] Lioux, EE.UU. 9,295,732 B2 (2016).
- [00336] Lund, *Proc. Nat'l Acad. Sci (USA)* **2004**, 101 (15), 5598, "Recognition of single-stranded RNA viruses by Toll-like receptor 7."
- [00337] Maj, EE.UU. 9,173,935 B2 (2015).
- 15 [00338] McGowan, EE.UU. 2016/0168150 A1 (2016) [2016a].
- [00339] McGowan, EE.UU. 9,499,549 B2 (2016) [2016b].
- [00340] McGowan, *J. Med. Chem.* **2017**, 60, 6137, "Identification and Optimization of Pyrrolo[3,2-d]pyrimidine Toll-like Receptor 7 (TLR7) Selective Agonists for the Treatment of Hepatitis B."
- 20 [00341] Musmuca, *J. Chem. Information & Modeling* **2009**, 49 (7), 1777, "Small-Molecule Interferon Inducers. Toward the Comprehension of the Molecular Determinants through Ligand-Based Approaches."
- [00342] Nakamura, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, 13, 669, "Synthesis and evaluation of 8-oxoadenine derivatives as potent Toll-like receptor agonists with high water solubility."
- 25 [00343] Ogita, EE.UU. 2007/0225303 A1 (2007).
- [00344] Ota, WO 2019/124500 A1 (2019).
- [00345] Pilatte, WO 2017/216293 A1 (2017).

- [00346] Poudel, EE.UU. 2019/0055243 A1 (2019) [2019a].
- [00347] Poudel, EE.UU. 2019/0055245 A1 (2019) [2019b].
- [00348] Purandare, Solicitud PCT Ser. No. PCT/US19/28697, archivado el 23 de Abril, 2019.
- [00349] Pryde, EE.UU. 7,642,350 B2 (2010).
- 5 [00350] Sato-Kaneko, *JCI Insight* **2017**, 2, e93397, “Combination Immunotherapy with TLR Agonists and Checkpoint Inhibitors Suppresses Head and Neck Cancer”.
- [00351] Smits, *The Oncologist* **2008**, 13, 859, “The Use of TLR7 and TLR8 Ligands for the Enhancement of Cancer Immunotherapy”.
- [00352] Vasilakos y Tomai, *Expert Rev. Vaccines* **2013**, 12, 809, “The Use of Toll-like  
10 Receptor 7/8 Agonists as Vaccine Adjuvants”.
- [00353] Vernejoul, EE.UU. 2014/0141033 A1 (2014).
- [00354] Young, EE.UU. 2019/0055244 A1 (2019).
- [00355] Yu, *PLoS One* **2013**, 8 (3), e56514, “Toll-Like Receptor 7 Agonists: Chemical Feature Based Pharmacophore Identification and Molecular Docking Studies.”
- 15 [00356] Zhang, *Immunity* **2016**, 45, 737, “Structural Analysis Reveals that Toll-like Receptor 7 Is a Dual Receptor for Guanosine and Single-Stranded RNA.”
- [00357] Zhang, WO 2018/095426 A1 (2018)>
- [00358] Zurawski, EE.UU. 2012/0231023 A1 (2012).

## REIVINDICACIONES

Lo que se reivindica es:

1. Un compuesto que tiene una estructura según la Fórmula I

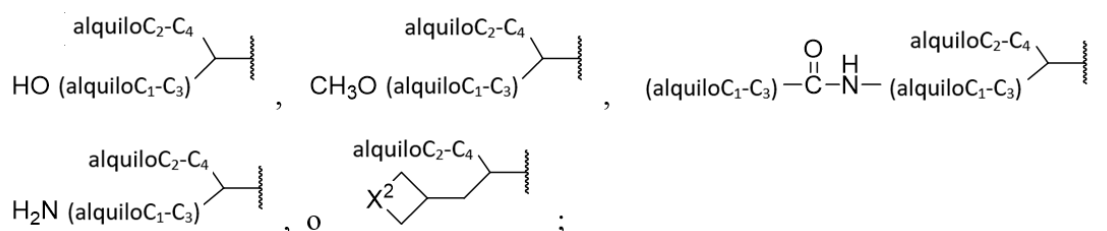


5 en donde

cada  $X^1$  es independientemente N o  $CR^2$ ;

$X^2$  es O,  $CH_2$ , NH, S, o N(alquilo  $C_1-C_3$ );

$R^1$  es H,  $CH_3(CH_2)_{1-3}$ ,  $CH_3(CH_2)_{0-1}O(CH_2)_{2-3}$ ,  $CH_3(CH_2)_{0-3}C(=O)$ ,  $CH_3(CH_2)_{0-1}O(CH_2)_{2-3}C(=O)$ ,



10  $R^2$  es H, O(alquilo $C_1-C_3$ ), alquilo  $C_1-C_3$ , Cl, F, o CN;

$R^3$  es H, halo, OH, CN,  $NH_2$ , NH(alquilo  $C_1-C_5$ ), N(alquilo  $C_1-C_5$ ) $_2$ ,  $NH(CH_2)_{0-1}$ (cicloalquilo  $C_3-C_6$ ), NH(bicicloalquilo  $C_4-C_8$ ), NH(espirocicloalquilo  $C_6-C_{10}$ ), N(cicloalquilo  $C_3-C_6$ ) $_2$ ,  $NH(CH_2)_{1-3}$ (arilo),  $N((CH_2)_{1-3}(\text{arilo}))_2$ , una fracción de amina cíclica que tiene la estructura

15 , una fracción aromática o heteroaromática de 6 miembros o una fracción heteroaromática de 5 miembros;

en donde

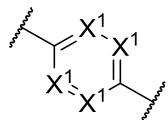
un alquilo, cicloalquilo, bicicloalquilo, spirocicloalquilo, amina cíclica, aromática o heteroaromática de 6 miembros, o una fracción heteroaromática de 5 miembros es  
20 opcionalmente sustituida por uno o más sustituyentes seleccionados de OH, halo, CN, (alquilo  $C_1-C_3$ ), O(alquilo  $C_1-C_3$ ),  $C(=O)(Me)$ ,  $SO_2$ (alquilo  $C_1-C_3$ ),  $C(=O)(Et)$ ,  $NH_2$ ,  $NH(Me)$ ,  $N(Me)_2$ ,  $NH(Et)$ ,  $N(Et)_2$ , y N(alquilo  $C_1-C_3$ ),  $(CH_2)_{1-2}OH$ ,  $(CH_2)_{1-2}OMe$ ; y

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

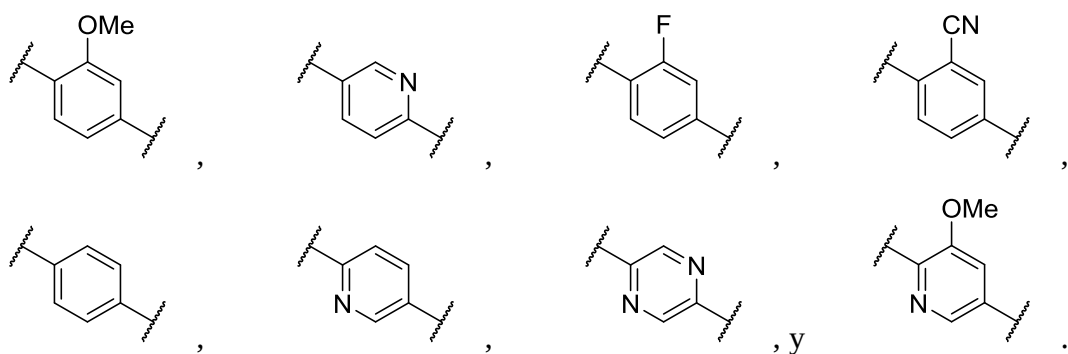
10



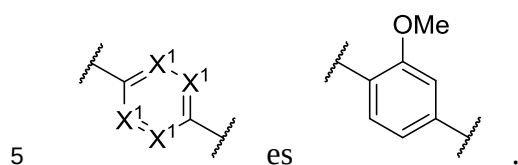
20



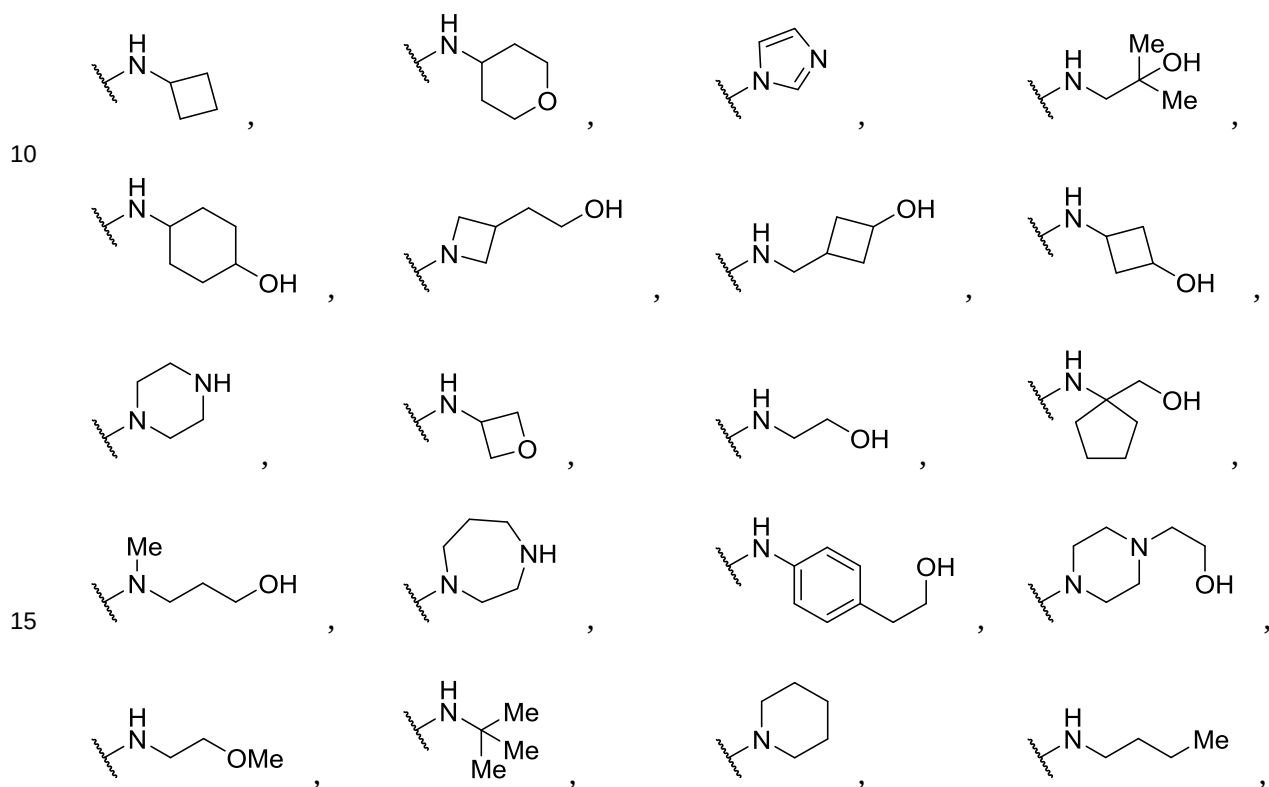
- 107 -

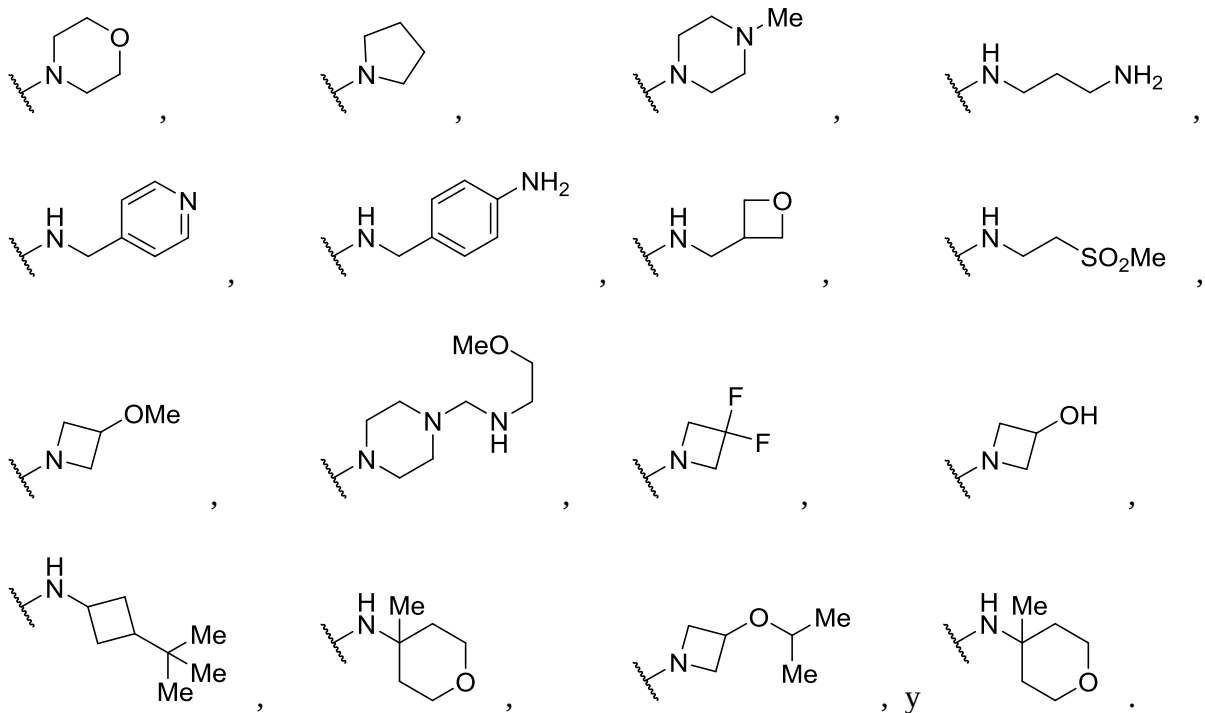


5. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la fracción

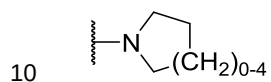


6. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el grupo  $R^3$  se selecciona del grupo que consiste en Cl, H,

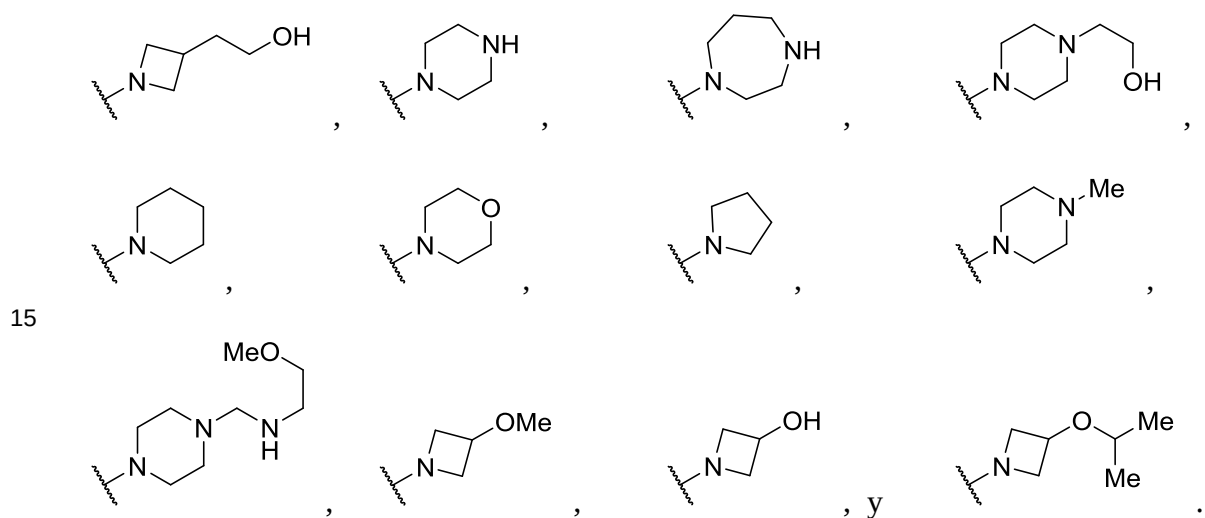




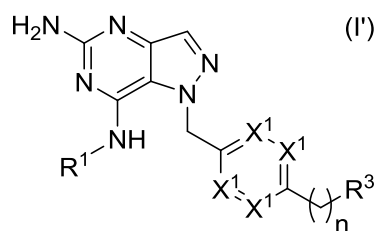
Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde  $R^3$  es una fracción



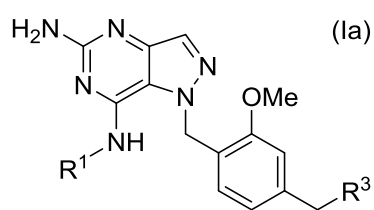
seleccionada del grupo que consiste de



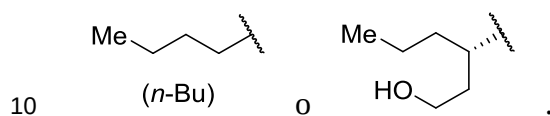
8. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, que tiene una estructura según la Fórmula (I')



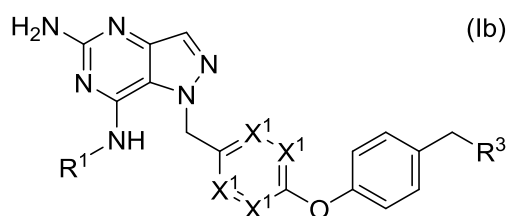
5 9. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, que tiene una estructura según la Fórmula Ia



10. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 9, en donde R<sup>1</sup> es

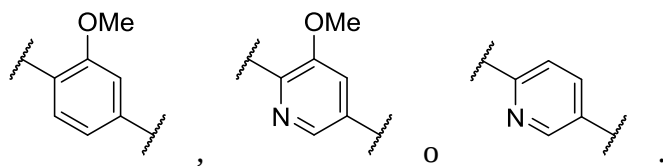
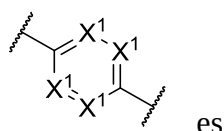


11. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, que tiene una estructura según la Fórmula Ib



15

12. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 11, en donde



5 13. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, que está unido covalentemente a una fracción de poli(etilenglicol) entre 2 kDa y 40 kDa en tamaño.

14. Un método para tratar un cáncer, que comprende administrar a un paciente que padece tal cáncer una combinación terapéuticamente eficaz de un agente de inmunoterapia anticancerígena  
10 y un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1.

15. Un método de acuerdo con la reivindicación 16, en donde el agente de inmunoterapia anti-cáncer es un anticuerpo antagonista anti-CTLA-4, anti-PD-1 o anti-PD-L1.

15 16. Un método de acuerdo con la reivindicación 15, en donde el cáncer es cáncer de pulmón (incluyendo cáncer de pulmón de células no pequeñas), cáncer de páncreas, cáncer de riñón, cáncer de cabeza y cuello, linfoma (incluyendo linfoma de Hodgkin), cáncer de piel (incluyendo melanoma y cáncer de piel de Merkel), cáncer urotelial (incluyendo cáncer de vejiga), cáncer gástrico, cáncer hepatocelular o cáncer colorrectal.

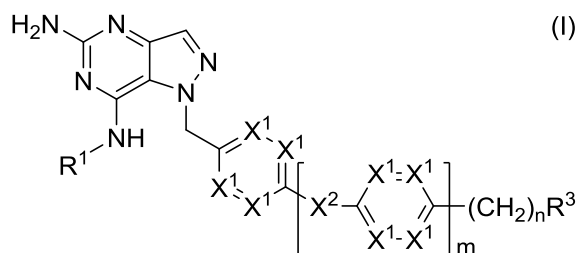
20

17. Un método de acuerdo con la reivindicación 15, en donde el agente de inmunoterapia contra el cáncer es ipilimumab, nivolumab o pembrolizumab.

\*\*\*\*\*

## RESUMEN DE LA DIVULGACIÓN

Los compuestos de acuerdo con la Fórmula I son útiles como agonistas del receptor 7 tipo Toll (TLR7).



Dichos compuestos pueden usarse en el tratamiento del cáncer, especialmente en combinación con un agente de inmunoterapia contra el cáncer, o como un adyuvante de vacuna.