

COMPUESTOS DE OXISOINDOLINA SUSTITUIDOS CON PIRIDINILO

REFERENCIA CRUZADA

Esta solicitud reivindica el beneficio de la solicitud provisional de la India con el
5 número de serie 202111016193, presentada el 6 de abril de 2021, y la solicitud
provisional de la India con el número de serie 202111022098, presentada el 17 de mayo
de 2021, cada una de las cuales se incorpora aquí en su totalidad.

DESCRIPCIÓN

10 La presente invención se refiere generalmente a compuestos de oxoisoindolina
sustituidos con piridinilo que inhiben la proteína Helios. En el presente documento se
proporcionan compuestos de oxoisoindolina sustituidos con piridinilo, composiciones que
comprenden dichos compuestos y métodos para su uso. La invención se refiere además a
composiciones farmacéuticas que comprenden al menos un compuesto de acuerdo con la
15 invención que son útiles para el tratamiento de trastornos proliferativos, tales como
cáncer e infecciones virales.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Las células T reguladoras (Treg) desempeñan un papel esencial en el control de la
20 auto-tolerancia y la homeostasis inmunológica mediante el mantenimiento de la actividad
inhibidora y la anergia frente a respuestas inmunes e inflamatorias vigorosas. A través de
la preservación de un fenotipo estable, anérgico y supresor, las Treg atenúan las
respuestas inmunes excesivas y previenen o mejoran la autoinmunidad. Varios informes
han documentado la presencia de Treg en tejidos tumorales humanos. Los estudios
25 demostraron una clara correlación negativa entre el número de Treg y la infiltración de
células T en el tumor y la supervivencia (Curiel, 2004, *Nat. Med.* 10: 942-949; Viguier,
2004, *J Immuno.* 1173:1444-1453; Beyer, 2006, *Blood* 108: 804-811; Zou, 2006, *Nat.*
Rev. Immunol. 6: 295-307), lo que implica un posible papel crítico de las Treg en la
prevención del desarrollo de una inmunidad antitumoral eficaz. La evidencia acumulada
30 indica que las Treg Foxp3+CD25+CD4+ se infiltran en su mayoría en los tumores y
dificultan aparentemente las respuestas inmunes a las células tumorales en roedores y
seres humanos. Una vez las Treg han sido activadas por un antígeno específico, estas

suprimen las células T de respuesta de manera antígeno-no específica (antígeno inespecífica) y por espectador *in vitro* (Takahashi, 1998, *Int Immunol.* 10: 1969–80; Thornton, 1998, *J Exp. Med.* 188:287–96). Las Treg Foxp3+CD25+CD4+ aparentemente son capaces de suprimir una amplia gama de respuesta inmune antitumoral que involucra células T (colaboradores) CD4+, células T CD8+, células asesinas naturales y células T asesinas naturales (Tanaka, 2017, *Cell Research* 27: 109-118). El agotamiento intratumoral de las Treg CD25+CD4+ indujo la regresión de tumores establecidos con un cambio en el medio de citocinas en los sitios del tumor (Yu, 2005, *J Exp Med.* 201: 779–91). Además, la transferencia de células T CD4+ empobrecidas (con deficiencia de) en Treg aumentó notablemente las respuestas inmunes antitumorales en comparación con la transferencia de células T que contienen Treg (Antony, 2005, *J Immunol* 174: 2591–601). Las Treg de infiltración tumoral activadas por autoantígenos derivados de tumores o antígenos asociados a tumores pueden suprimir de manera similar las respuestas inmunes antitumorales específicas. La modulación de las actividades de factores clave para controlar la diferenciación de Treg podría representar una estrategia terapéutica potencial para el tratamiento de ciertas enfermedades, incluidas el cáncer y las infecciones virales.

Las Treg FoxP3+CD4 son notablemente estables. Los estudios aún están evolucionando para comprender los mecanismos genéticos que aseguran su estabilidad fenotípica después de la expansión durante la inflamación, infección o autoinmunidad. Es probable que los factores de transcripción (TF) responsables de mantener el fenotipo inmunosupresor estable de las Treg contribuyan a este proceso. El gen Helios (IKZF2), un miembro de la familia Ikaros de los TFs, se diferencia de otros miembros de la familia Ikaros con base en su expresión selectiva por timocitos sometidos a selección negativa, así como por linajes de células T reguladoras CD4 y CD8. Helios se expresa mediante dos linajes de células T reguladoras, las Treg FoxP3+CD4+ y Ly49+CD8+, que son esenciales para mantener la auto-tolerancia (Kim, 2015, *Science* 350: 334–339; Sebastian, 2016, *J Immunol* 196: 144-155). Curiosamente, estudios recientes sugieren que, aunque Helios es en gran medida prescindible para la actividad de las Treg en el estado estacionario, el control del programa genético de las Treg FoxP3+CD4 mediante Helios en el contexto de la inflamación es esencial para mantener un fenotipo estable y potenciar la función supresora (Thornton, 2010, *J Immunol.* 184:3433–3441; Kim, 2015). Se demostró que la expresión de Helios por Treg es clave en la capacidad para mantener un

fenotipo supresor y anérgico frente a respuestas inflamatorias intensas. Se demostró que la activación de la vía IL-2R α -STAT5 es un factor clave al garantizar la supervivencia y estabilidad de Treg (Kim, 2015). Helios juega un papel indispensable en el mantenimiento del fenotipo de los Treg FoxP3+CD4 al ejercer una inhibición intrínseca de linfocitos dominante para prevenir enfermedades autoinmunes en presencia de células T autorreactivas altamente activadas de ratones Scurfy, que no tienen un dominio de cabeza de horquilla FoxP3. Las quimeras de médula ósea (BM) reconstituidas con células Helios $-/-$ /Scurfy BM pero no con células Helios $+/+$ /Scurfy BM desarrollaron rápidamente autoinmunidad (Kim, 2015). Estas observaciones indican la contribución clave de Helios para autorreactivar la selección, la diferenciación y la función de células T. La inmunosupresión ejercida por las Treg puede impedir las respuestas inmunes antitumorales. Una deficiencia selectiva de Helios en las Treg FoxP3+CD4 da como resultado una mayor inestabilidad de Treg y una mayor conversión de Treg CD4 intratumoral en células T efectoras (Teff). La inestabilidad de los Treg intratumorales puede aumentar la cantidad de células Teff dentro de los tumores como resultado tras la combinación de la conversión de Treg y la reducción de actividades supresoras de Treg. Además, se observaron respuestas de IL-2 defectuosas en células Treg intratumorales deficientes en Helios, lo que resulta en una cantidad reducida de Treg activados y también puede contribuir al aumento de actividades intratumorales de Teff. La interacción entre las células tumorales y las células inmunes infiltrantes conduce a la secreción de mediadores inflamatorios, incluidos TNF- α , IL-6, IL-17, IL-1 y TGF- β , y a la formación de un entorno inflamatorio local (Kim, 2015).

La inestabilidad del linaje celular de Treg deficiente en Helios también se acompaña de una expresión disminuida de FoxP3 y da como resultado la adquisición de un fenotipo efector al producir citocinas proinflamatorias. La conversión de células efectoras de Treg deficientes en Helios dentro del microambiente del tejido tumoral se asocia con una mayor expresión de genes que controlan el fenotipo Teff (Yates, 2018, *PNAS*, 2018, 115: 2162-2167). La adquisición de un fenotipo inestable por deficiencia de Helios solo ocurre dentro del microambiente tumoral (TME), pero no en los órganos linfoides periféricos (Nakagawa, 2016, *PNAS* 113: 6248-6253). Dentro del TME inflamatorio crónico, la deficiencia de Helios en los Treg podría aliviar drásticamente los programas genéticos reprimidos asociados con la diferenciación de las células T

auxiliares mediante la regulación positiva de los TF asociados a las células T auxiliares y a las citocinas efectoras. Estos cambios genéticos de los Treg deficientes en helios son más evidentes en una subpoblación de Treg con alta afinidad por los autoantígenos, como lo demuestra la expresión mejorada de GITR/PD-1 y una mayor capacidad de respuesta a los autoantígenos. Sus efectos combinados pueden promover una conversión fenotípica de Treg a Teff dentro del TME con una mayor participación del receptor de células T (TCR) y una expresión del receptor coestimulador por Treg, lo que sugiere que las alteraciones en la expresión génica, como una característica central de la conversión de Treg, son inmunes dependiendo del medio (Yates, 2018).

La expresión reducida de Helios en los Treg FoxP3+CD4 puede permitir la conversión de Treg de memoria en células Teff que expresan receptores de células T autorreactivos con especificidad por antígenos tumorales. Una firma de Treg alterada podría inducirse selectivamente dentro de las condiciones inflamatorias crónicas del tumor en crecimiento. Las células Treg deficientes en helios pueden mostrar un repertorio de TCR sesgado hacia una alta afinidad contra los autopéptidos/MHC, que pueden promover una activación robusta en el TME (Yates, 2018). En vista del aumento de la autorreactividad de TCR en Treg CD4 en comparación con células T convencionales, la conversión de Treg podría generar células T CD4 efectores muy potentes acompañados de supresión atenuada mediada por Treg dentro del TME. Una estrategia más eficaz puede depender de enfoques que conviertan selectivamente los Treg intratumorales en células Teff sin afectar a la población de Treg sistémico. Como actor clave en el mantenimiento del tamaño de Treg y la estabilidad funcional en respuesta a diversas perturbaciones inmunológicas, la intervención farmacológica de Helios podría ser relevante para las estrategias que fortalecen la inmunoterapia tumoral actual. Dado que la conversión de Treg a Teff puede limitarse a microambientes intratumorales inflamatorios, los enfoques basados en anticuerpos o moléculas pequeñas que se dirigen a Helios pueden conducir a una inmunoterapia contra el cáncer mejorada dependiente de Treg. Es importante destacar que la conversión de Treg deficientes en Helios solo se produce dentro del entorno inflamatorio local del tumor. Este enfoque puede no provocar los efectos secundarios autoinmunes asociados con la reducción sistémica de Treg. Por lo tanto, las estrategias que aprovechan específicamente el control dependiente de Helios del fenotipo Treg intratumoral representan una promesa significativa para mejorar la

inmunoterapia contra el cáncer. Además, también se informó que la eliminación de Treg Foxp3+ mejora las respuestas de células T antitumorales inducidos por la vacuna (Nishikawa, 2010, *Int. J. Cancer* 127: 759-767), lo que sugiere que la disminución de la concentración de Helios podría ser beneficiosa para aumentar la eficacia de las vacunas contra el cáncer.

Además de la inmunoterapia antitumoral, durante las infecciones virales, las células Treg pueden limitar la inmunopatología resultante de una inflamación excesiva, pero inhiben potencialmente las respuestas antivirales efectivas de las células T y promueven la persistencia del virus (Schmitz, 2013, *PLOS Pathogens* 9: e1003362). La infección crónica, pero no aguda, de ratones con el virus de la coriomeningitis linfocítica da como resultado una expansión marcada de Treg Foxp3+, lo que implica un posible mecanismo por el que ciertos agentes infecciosos podrían evadir las respuestas inmunes del huésped mediante la activación y expansión de Treg (Punkosdy, 2011, *PNAS* 108: 3677–3682). Los beneficios del tratamiento podrían lograrse al disminuir la concentración de Helios en Treg activados en el contexto relevante para las infecciones virales crónicas.

Existe la necesidad de compuestos útiles como inhibidores de la proteína Helios.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

La presente invención proporciona compuestos de oxoisoindolina sustituidos con piridinilo de la Fórmula (I) o sales de los mismos, que son útiles para disminuir los niveles de proteína Helios, disminuir los niveles de actividad de Helios y/o inhibir los niveles de expresión de Helios en las células.

La presente invención también proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de la Fórmula (I) y/o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y un portador farmacéuticamente aceptable.

La presente invención también proporciona un método para tratar una enfermedad o trastorno al disminuir la actividad de la proteína Helios, el método comprende administrar a un paciente un compuesto de la Fórmula (I) y/o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

La presente invención también proporciona procesos e intermedios para preparar los compuestos de la Fórmula (I) y/o sales de los mismos.

La presente invención también proporciona un compuesto de la Fórmula (I) y/o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en terapia.

La presente invención también proporciona el uso de los compuestos de la Fórmula (I) y/o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, para la fabricación de un medicamento para disminuir la concentración de proteína de Helios, disminuir los niveles de actividad de Helios y/o inhibir los niveles de expresión de Helios en células para controlar la diferenciación de Treg, para el tratamiento de determinadas enfermedades, incluidos el cáncer y las infecciones virales.

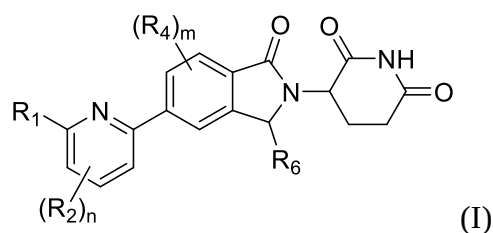
Los compuestos de la Fórmula (I) y las composiciones que comprenden los compuestos de la Fórmula (I) se pueden usar para tratar, prevenir o curar infecciones virales y diversos trastornos proliferativos, tales como el cáncer. Las composiciones farmacéuticas que comprenden estos compuestos son útiles para tratar, prevenir o ralentizar la progresión de enfermedades o trastornos en una variedad de áreas terapéuticas, tales como infecciones virales y cáncer.

Estas y otras características de la invención se expondrán en forma ampliada a medida que continúe la divulgación.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Los solicitantes han encontrado compuestos de oxoisoindolina sustituidos que inhiben la proteína Helios al facilitar la interacción de la proteína Helios y el complejo E3 ubiquitina-ligasa correspondiente (Cullin4-Cereblon, CUL4-CRBN). Estos compuestos disminuyen los niveles de proteína Helios, disminuyen los niveles de actividad de Helios y/o inhiben los niveles de expresión de Helios en las células para controlar la diferenciación de Treg. Estos compuestos son útiles para el tratamiento de ciertas enfermedades, incluido el cáncer y las infecciones virales. Los compuestos se proporcionan por ser útiles como productos farmacéuticos con valores de estabilidad, biodisponibilidad, índice terapéutico y toxicidad deseables que son importantes por su capacidad de tratamiento.

El primer aspecto de la presente invención proporciona al menos un compuesto de la Fórmula (I):



o una sal del mismo, en donde:

R_1 es $-NH_2$ o $-NH(CH_3)$;

cada R_2 es independientemente F, Cl, $-CN$, alquilo C_{1-4} , $-CH_2F$, $-CHF_2$, $-CF_3$, $-OCH_3$ o

5 ciclopropilo;

cada R_4 es independientemente F, Cl, $-CH_3$, $-CH_2F$, $-CHF_2$, $-CF_3$ o $-OCH_3$;

R_6 es hidrógeno, alquilo C_{1-2} o fluoroalquilo C_{1-2} ;

m es cero, 1, 2 o 3; y

n es cero, 1, 2 o 3;

10 con la condición de que cuando R_6 es hidrógeno m es 1, 2 o 3.

Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde R_1 es $-NH_2$.

Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde R_1 es $-NH(CH_3)$.

15 Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde cada R_2 es independientemente F, Cl, $-CN$, $-CH_3$, $-CH_2CH_3$, $-CH(CH_3)_2$, $-CH_2CH_2CH_2CH_3$, $-CH_2F$, $-CHF_2$, $-CF_3$, $-OCH_3$ o ciclopropilo.

Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde cada R_2 es independientemente F, Cl, $-CN$, $-CH_3$, $-CH_2CH_3$, $-CH(CH_3)_2$,

20 $-CH_2CH_2CH_2CH_3$, $-CH_2F$, $-CHF_2$ o $-CF_3$.

Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde cada R_2 es independientemente F, Cl, $-CN$, $-CH_3$, $-CH_2CH_3$, $-CH_2F$, $-CHF_2$ o $-CF_3$.

25 Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde cada R_2 es independientemente F, Cl, $-CN$, $-CH_3$ o $-CF_3$.

Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde cada R_2 es independientemente $-CN$, $-CH_3$ o $-CF_3$.

Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo,

en donde cada R_2 es independientemente F, $-\text{CN}$, $-\text{CH}_3$ o $-\text{CF}_3$.

Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde cada R_2 es independientemente F, $-\text{CN}$ o $-\text{CH}_3$.

Una modalidad proporciona un compuesto de Fórmula (I) o una sal del mismo, en la que n es cero, 1 o 2.

Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde n es cero o 1.

Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde n es 1 o 2.

Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde n es cero.

Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde n es 1.

Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde n es 2.

Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde cada R_2 es independientemente $-\text{CN}$, $-\text{CH}_3$ o $-\text{CF}_3$; y n es cero, 1 o 2. En esta modalidad se incluyen compuestos en los que n es 1 o 2.

Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde cada R_2 es independientemente $-\text{CN}$, $-\text{CH}_3$ o $-\text{CF}_3$; y n es cero o 1. En esta modalidad se incluyen compuestos en los que n es 1.

Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde cada R_2 es independientemente $-\text{CN}$, $-\text{CH}_3$ o $-\text{CF}_3$; y n es 2.

Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde cada R_2 es independientemente $-\text{CN}$ o $-\text{CH}_3$; y n es 1 o 2. En esta modalidad se incluyen compuestos en los que n es 1. También en esta modalidad se incluyen compuestos en los que n es 2.

Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde cada R_2 es $-\text{CH}_3$; y n es 1 o 2. En esta modalidad se incluyen compuestos en los que n es 1. También en esta modalidad se incluyen compuestos en los que n es 2.

Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde cada R_4 es independientemente F, Cl, $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{F}$, $-\text{CHF}_2$ o $-\text{CF}_3$.

Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde cada R_4 es independientemente F, $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{F}$, $-\text{CHF}_2$ o $-\text{CF}_3$.

Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde cada R_4 es independientemente F, $-\text{CH}_3$, $-\text{CHF}_2$ o $-\text{CF}_3$.

5 Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde cada R_4 es independientemente F o $-\text{CH}_3$.

Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde cada R_4 es F_3 . En esta modalidad se incluyen compuestos en los que m es 1. En esta modalidad también se incluyen compuestos en los que m es 2.

10 Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde cada R_4 es $-\text{CH}_3$. En esta modalidad se incluyen compuestos en los que m es 1. En esta modalidad también se incluyen compuestos en los que m es 2.

Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde m es cero, 1 o 2.

15 Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde m es cero o 1.

Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde m es 1 o 2.

20 Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde m es 1, 2 o 3.

Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde m es 1.

Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde R_6 es hidrógeno; y m es 1, 2 o 3.

25 Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde R_6 es hidrógeno; y m es 1 o 2.

Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde R_6 es hidrógeno; y m es 1.

30 Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde R_6 es hidrógeno; y m es 2.

Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde R_6 es hidrógeno; y m es 3.

Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde R_6 es hidrógeno; m es 1; y R_4 es F, Cl, $-CH_3$, $-CH_2F$, $-CHF_2$ o $-CF_3$. En esta modalidad se incluyen compuestos en los que R_4 es F, $-CH_3$, $-CHF_2$ o $-CF_3$. También se incluyen en esta modalidad compuestos en los que R_4 es F, $-CH_3$ o $-CF_3$. Además, en

5 esta modalidad se incluyen compuestos en los que R_4 es F o $-CH_3$.

Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde R_6 es hidrógeno; m es 1; y R_4 es F.

Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde R_6 es hidrógeno; m es 1; y R_4 es $-CH_3$.

10 Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde R_6 es hidrógeno; m es 1 o 2; y R_4 es F o $-CH_3$.

Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde R_6 es alquilo C_{1-2} o fluoroalquilo C_{1-2} .

15 Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde R_6 es alquilo C_{1-2} , $-CH_2F$, $-CF_2H$, $-CF_3$ o $-CH_2CF_3$.

Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde R_6 es alquilo C_{1-2} , $-CH_2F$, $-CF_2H$ o $-CF_3$.

Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde R_6 es alquilo C_{1-2} o $-CF_3$.

20 Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde R_6 es alquilo C_{1-2} .

Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde R_6 es $-CH_3$.

25 Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde R_6 es $-CH_2F$, $-CF_2H$, $-CF_3$ o $-CH_2CF_3$.

Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde R_6 es $-CH_2F$, $-CF_2H$ o $-CF_3$.

Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde R_6 es alquilo C_{1-2} o fluoroalquilo C_{1-2} ; y m es cero.

30 Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde R_6 es alquilo C_{1-2} , $-CH_2F$, $-CF_2H$, $-CF_3$ o $-CH_2CF_3$; y m es cero.

Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde R_6 es alquilo C_{1-2} , $-CH_2F$, $-CF_2H$ o $-CF_3$; y m es cero.

Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde R_6 es alquilo C_{1-2} o $-CF_3$; y m es cero.

5 Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde R_6 es alquilo C_{1-2} ; y m es cero.

Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde R_6 es $-CH_3$; y m es cero.

10 Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde R_6 es $-CH_2F$, $-CF_2H$, $-CF_3$ o $-CH_2CF_3$; y m es cero.

Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde R_6 es $-CH_2F$, $-CF_2H$ o $-CF_3$; y m es cero.

Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde R_1 es $-NH_2$ o $-NH(CH_3)$; cada R_2 es independientemente $-CN$, $-CH_3$ o $-CF_3$; cada R_4 es independientemente F o $-CH_3$; R_6 es hidrógeno o $-CH_3$; m es cero o 1; y n es 1 o 2; con la condición de que cuando R_6 es hidrógeno m es 1.

20 Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde R_1 es $-NH_2$; cada R_2 es independientemente $-CN$, $-CH_3$ o $-CF_3$; R_4 es F o $-CH_3$; R_6 es hidrógeno o $-CH_3$; m es cero o 1; y n es 1 o 2; con la condición de que cuando R_6 es hidrógeno m es 1.

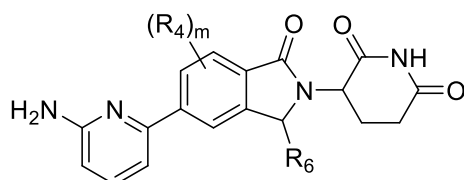
Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde R_1 es $-NH(CH_3)$; cada R_2 es independientemente $-CN$ o $-CH_3$; R_4 es F o $-CH_3$; R_6 es hidrógeno o $-CH_3$; m es cero o 1; y n es 1 o 2; con la condición de que cuando R_6 es hidrógeno m es 1.

25 Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde R_1 es $-NH_2$; cada R_2 es independientemente $-CN$, $-CH_3$ o $-CF_3$; cada R_4 es independientemente F o $-CH_3$; R_6 es $-CH_3$; m es 1; y n es 1 o 2. En esta modalidad se incluyen compuestos en los que cada R_2 es $-CH_3$.

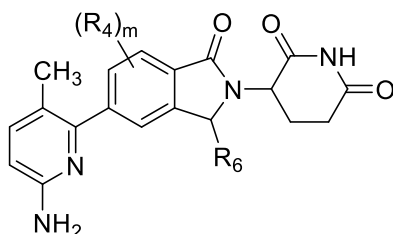
30 Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde R_1 es $-NH_2$; cada R_2 es independientemente $-CN$ o $-CH_3$; R_4 es F o $-CH_3$; R_6 es hidrógeno; m es 1; y n es 1 o 2.

Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde R_1 es $-NH_2$ o $-NH(CH_3)$; cada R_2 es independientemente $-CH_3$; R_4 es F; R_6 es hidrógeno o $-CH_3$; m es cero o 1; y n es 1 o 2; con la condición de que cuando R_6 es hidrógeno m es 1.

- 5 Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, con la estructura:

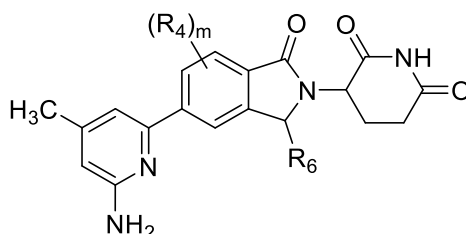


Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, con la estructura:

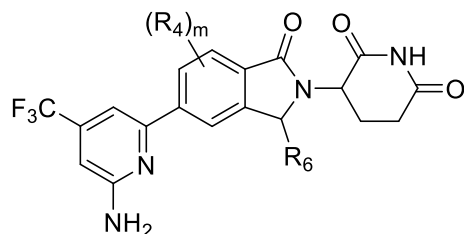


10

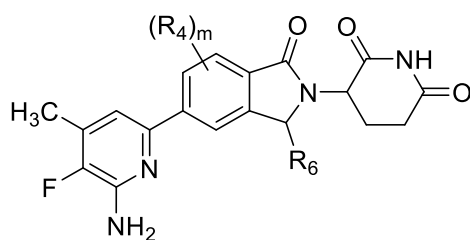
Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, con la estructura:



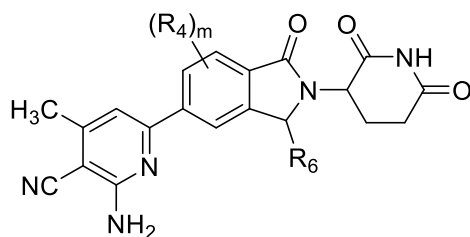
- 15 Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, con la estructura:



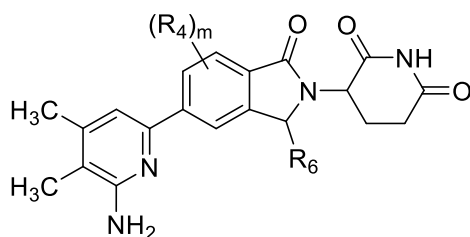
Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, con la estructura:



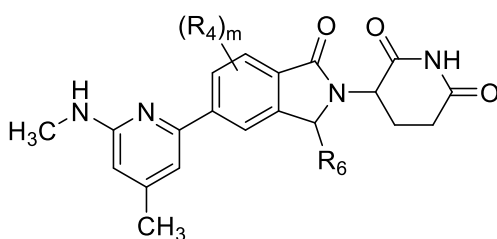
Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, con la estructura:



5 Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, con la estructura:

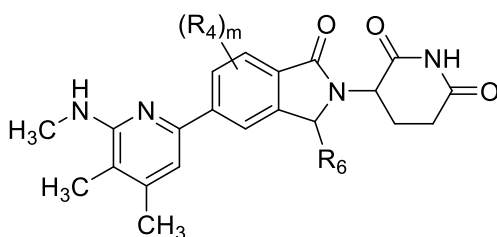


Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, con la estructura:

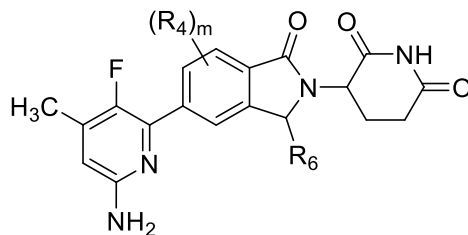


10

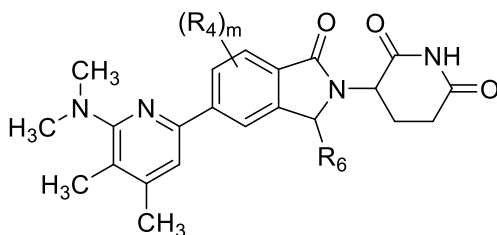
Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, con la estructura:



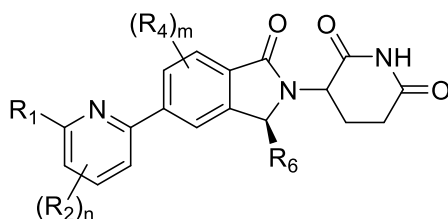
Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, con la estructura:



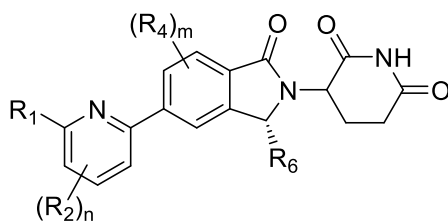
Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, con la estructura:



Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, con la estructura:



Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, con la estructura:



Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde dicho compuesto es: 2-amino-6-(2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-4-metil-1-

oxoisindolin-5-il)-4-metilnicotinonitrilo (1); 2-amino-6-(2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-6-metil-1-oxoisindolin-5-il)-4-metilnicotinonitrilo (2); 2-amino-6-(2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-4-fluoro-1-oxoisindolin-5-il)-4-metilnicotinonitrilo (3); 3-(5-(6-amino-4-metilpiridin-2-il)-4-fluoro-1-oxoisindolin-2-il)piperidina-2,6-diona (4); 3-(5-(6-amino-4-

(trifluoroetil) piridin-2-il)-4-fluoro-1-oxoisoindolin-2-il)piperidina-2,6-diona (5); 3-(4-fluoro-5-(4-metil-6-(metilamino)piridin-2-il)-1-oxoisoindolin-2-il) piperidina-2,6-diona (6); 3-(5-(6-amino-4,5-dimetilpiridin-2-il)-4-fluoro-1-oxoisoindolin-2-il) piperidina-2,6-diona (7); 3-((S)-5-(6-amino-4,5-dimetilpiridin-2-il)-3-metil-1-oxoisoindolin-2-il) piperidina-2,6-diona (8); 3-((R)-5-(6-amino-4,5-dimetilpiridin-2-il)-3-metil-1-oxoisoindolin-2-il) piperidina-2,6-diona (9); 2-amino-6-((3S)-2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-3-metil-1-oxoisoindolin-5-il)-4-metilnicotinonitrilo (10); 2-amino-6-((3R)-2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-3-metil-1-oxoisoindolin-5-il)-4-metilnicotinonitrilo (11); 3-((S)-5-(4,5-dimetil-6-(metilamino) piridin-2-il)-3-metil-1-oxoisoindolin-2-il)piperidina-2,6-diona (12); 3-((R)-5-(4,5-dimetil-6-(metilamino)piridin-2-il)-3-metil-1-oxoisoindolin-2-il)piperidina-2,6-diona (13); 6-((3S)-2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-3-metil-1-oxoisoindolin-5-il)-4-metil-2-(metilamino) nicotinonitrilo (14); 6-((3R)-2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-3-metil-1-oxoisoindolin-5-il)-4-metil-2-(metilamino)nicotinonitrilo (15); 3-((S)-5-(6-amino-4,5-dimetilpiridin-2-il)-4-fluoro-3-metil-1-oxoisoindolin-2-il) piperidina-2,6-diona (16); 3-((R)-5-(6-amino-4,5-dimetilpiridin-2-il)-4-fluoro-3-metil-1-oxoisoindolin-2-il) piperidina-2,6-diona (17); 3-(5-(6-amino-3-metilpiridin-2-il)-4-fluoro-1-oxoisoindolin-2-il) piperidina-2,6-diona (18); 3-(5-(6-amino-5-fluoro-4-metilpiridin-2-il)-4-fluoro-1-oxoisoindolin-2-il) piperidina-2,6-diona (19); 3-(5-(6-amino-3-fluoro-4-metilpiridin-2-il)-4-fluoro-1-oxoisoindolin-2-il) piperidina-2,6-diona (20); 3-(5-(6-amino-5-fluoro-4-metilpiridin-2-il)-4-fluoro-3-metil-1-oxoisoindolin-2-il) piperidina-2,6-diona (21-22); 2-amino-6-((3R)-2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-4-fluoro-3-metil-1-oxoisoindolin-5-il)-4-metilnicotinonitrilo (23); 3-((R)-5-(6-amino-4-metilpiridin-2-il)-4-fluoro-3-metil-1-oxoisoindolin-2-il)piperidina-2,6-diona (24); 3-((R)-5-(6-amino-4-(trifluorometil)piridin-2-il)-4-fluoro-3-metil-1-oxoisoindolin-2-il)piperidina-2,6-diona (25); 3-((R)-5-(6-amino-3-metilpiridin-2-il)-4-fluoro-3-metil-1-oxoisoindolin-2-il)piperidina-2,6-diona (26); 3-((R)-5-(6-aminopiridin-2-il)-4-fluoro-3-metil-1-oxoisoindolin-2-il) piperidina-2,6-diona (27); (R)-3-((R)-5-(6-amino-4,5-dimetilpiridin-2-il)-4-fluoro-3-metil-1-oxoisoindolin-2-il)piperidina-2,6-diona (28); 3-((R)-5-(6-amino-5-fluoro-4-metilpiridin-2-il)-4-fluoro-3-metil-1-oxoisoindolin-2-il)piperidina-2,6-diona (29); o 3-((S)-5-(6-amino-5-fluoro-4-metilpiridin-2-il)-4-fluoro-3-metil-1-oxoisoindolin-2-il)piperidina-2,6-diona (30).

Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde dicho compuesto es 3-((R)-5-(6-amino-5-fluoro-4-metilpiridin-2-il)-3-metil-1-

oxoisoindolin-2-il)piperidina-2,6-diona.

Una modalidad proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, en donde dicho compuesto es 3-((S)-5-(6-amino-5-fluoro-4-metilpiridin-2-il)-3-metil-1-oxoisoindolin-2-il)piperidina-2,6-diona.

5 La presente invención se puede realizar de otras formas específicas sin apartarse del espíritu o atributos esenciales de la misma. Esta invención abarca todas las combinaciones de los aspectos y/o modalidades de la invención indicados en este documento. Se entiende que cualquiera y todas las modalidades de la presente invención pueden tomarse junto con cualquier otra modalidad o modalidades para describir
10 modalidades adicionales. También debe entenderse que cada elemento individual de las modalidades está destinado a combinarse con cualquiera y todos los demás elementos de cualquier modalidad para describir una modalidad adicional.

Las características y ventajas de la invención pueden ser entendidas más fácilmente por los expertos en la técnica al leer la siguiente descripción detallada. Debe
15 apreciarse que ciertas características de la invención que, por razones de claridad, se describen anteriormente y a continuación en el contexto de modalidades separadas, también pueden combinarse para formar una modalidad única. A la inversa, varias características de la invención que, por razones de brevedad, se describen en el contexto de una modalidad única, también pueden combinarse para formar sub-combinaciones de
20 las mismas. Las modalidades identificadas en el presente documento a modo de ejemplo o preferidas pretenden ser ilustrativas y no limitantes.

A menos que se especifique lo contrario en este documento, las referencias hechas en singular también pueden incluir el plural. Por ejemplo, “un” y “una” pueden referirse a uno o una o más.

25 Como se usa en el presente documento, la frase “compuestos y/o sales de los mismos” se refiere a al menos un compuesto, al menos una sal de los compuestos, o una combinación de los mismos. Por ejemplo, los compuestos de la Fórmula (I) y/o sales de los mismos incluyen un compuesto de la Fórmula (I); dos compuestos de la Fórmula (I); una sal de un compuesto de la Fórmula (I); un compuesto de la Fórmula (I) y una o más
30 sales del compuesto de la Fórmula (I); y dos o más sales de un compuesto de la Fórmula (I).

A menos que se indique lo contrario, se asume que cualquier átomo con valencias

no satisfechas tiene átomos de hidrógeno suficientes para satisfacer las valencias.

Las definiciones establecidas en este documento tienen prioridad sobre las definiciones establecidas en cualquier patente, solicitud de patente y/o publicación de solicitud de patente incorporada en el presente documento por referencia.

5 Listadas a continuación están las definiciones de varios términos utilizados para describir la presente invención. Estas definiciones se aplican a los términos a medida que se usan a lo largo de la especificación (a menos que estén limitados en casos específicos) ya sea individualmente o como parte de un grupo más grande.

10 A lo largo de la especificación, un experto en el campo puede elegir grupos y sustituyentes de los mismos para proporcionar fracciones y compuestos estables.

De acuerdo con una convención utilizada en la técnica,



15 se utiliza en las fórmulas estructurales del presente documento para representar el enlace que es el punto de unión de la fracción o sustituyente a la estructura del núcleo o la estructura principal.

Los términos “halo” y “halógeno”, como se usan en este documento, se refieren a F, Cl, Br y I.

El término “ciano” se refiere al grupo -CN.

El término “amino” se refiere al grupo -NH₂.

20 El término “oxo” se refiere al grupo =O.

El término “alquilo”, como se usa en el presente documento, se refiere a grupos de hidrocarburos alifáticos saturados tanto de cadena lineal como ramificada que contienen, por ejemplo, de 1 a 12 átomos de carbono, de 1 a 6 átomos de carbono y de 1 a 4 átomos de carbono. Ejemplos de grupos alquilo incluyen, pero no se limitan a metilo (Me), etilo (Et), propilo (p. ej., n-propilo y i-propilo), butilo (p. ej., n-butilo, i-butilo, sec-butilo, y *t*-butilo), y pentilo (p. ej., n-pentilo, isopentilo, neopentilo), n-hexilo, 2-metilpentilo, 2-etilbutilo, 3-metilpentilo, y 4-metilpentilo. Cuando los números aparecen en un subíndice después del símbolo “C”, el subíndice define con más especificidad la cantidad de átomos de carbono que puede contener un grupo en particular. Por ejemplo, “alquilo C₁₋₄” denota grupos alquilo de cadena lineal y ramificada con uno a cuatro átomos de carbono.

25

30

El término “fluoroalquilo”, como se usa en el presente documento, pretende incluir grupos de hidrocarburos alifáticos saturados tanto de cadena ramificada como lineal sustituidos con uno o más átomos de flúor. Por ejemplo, “fluoroalquilo C₁₋₄” pretende incluir grupos alquilo C₁, C₂, C₃ y C₄ sustituidos por uno o más átomos de flúor.

5 Ejemplos representativos de grupos fluoroalquilo incluyen, pero no se limitan a, -CF₃ y -CH₂CF₃.

Los compuestos de la presente invención incluyen todos los isótopos de los átomos que aparecen en los presentes compuestos. Los isótopos incluyen aquellos átomos que tienen el mismo número atómico pero diferentes números de masa. A modo de
10 ejemplo general y sin limitación, los isótopos de hidrógeno incluyen deuterio (D) y tritio (T). Los isótopos de carbono incluyen ¹³C y ¹⁴C. Los compuestos etiquetados con isótopos de la invención pueden prepararse generalmente mediante técnicas convencionales conocidas por los expertos en la técnica o mediante procedimientos análogos a los descritos en el presente documento, usando un reactivo etiquetado con
15 isótopos apropiado en lugar del reactivo no etiquetado empleado de otra manera.

La frase “farmacéuticamente aceptable” se emplea aquí para referirse a aquellos compuestos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación que son, dentro del alcance del juicio médico, adecuados para uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica u otro problema
20 o complicación, de acuerdo con una relación razonable beneficio/riesgo.

Los compuestos de la fórmula (I) pueden formar sales que también están dentro del alcance de esta invención. A menos que se indique lo contrario, se entiende que la referencia a un compuesto de la invención incluye una referencia a una o más sales del mismo. El término “sal(es)” denota sales ácidas y/o básicas formadas con ácidos y bases
25 inorgánicos y/u orgánicos. Además, el término “sal(es)” puede incluir zwitteriones (sales internas), p. ej., cuando un compuesto de la Fórmula (I) contiene ambas una fracción básica, tal como una amina o un anillo de piridina o imidazol, y una fracción ácida, tal como un ácido carboxílico. Se prefieren sales farmacéuticamente aceptables (*es decir*, no tóxicas, fisiológicamente aceptables), tales como, por ejemplo, sales de aminas y
30 metálicas aceptables en las que el catión no contribuye significativamente a la toxicidad o actividad biológica de la sal. Sin embargo, otras sales pueden ser útiles, por ejemplo, en pasos de aislamiento o purificación que pueden emplearse durante la preparación, y por lo

tanto, se contemplan dentro del alcance de la invención. Las sales de los compuestos de la fórmula (I) pueden formarse, por ejemplo, haciendo reaccionar un compuesto de la fórmula (I) con una cantidad de ácido o base, tal como una cantidad equivalente, en un medio tal como uno en el que la sal se precipita o en un medio acuoso seguido de liofilización.

Sales de adición ácida de ejemplo incluyen acetatos (tales como los formados con ácido acético o ácido trihaloacético, por ejemplo, ácido trifluoroacético), adipatos, alginatos, ascobatos, aspartatos, benzoatos, bencenosulfonatos, bisulfatos, boatos, butiratos, citratos, camforatos, camforsulfonatos, ciclopentanopropionatos, digluconatos, dodecilsulfatos, etanosulfonatos, fumaratos, glucoheptanoatos, glicerofosfatos, hemisulfatos, heptanoatos, hexanoatos, clohidratos (formados con ácido hidrocórico), hidrobromuro (formado con bromuro de hidrógeno), hidroyoduro, maleatos (formados con ácido maleico), 2-hidroxietanosulfonatos, lactatos, metanosulfonatos (formados con ácido metanosulfónico), 2-naftalenosulfonatos, nicotinatos, nitratos, oxalatos, pectinatos, persulfatos, 3-fenilpropionatos, fosfatos, picratos, pivalatos, propionatos, salicilatos, succinatos, sulfatos (tales como los formados con ácido sulfúrico), sulfonatos (tales como los mencionados en el presente documento), tartratos, tiocianatos, toluenosulfonatos tales como tosilatos, undecanoatos y similares.

Sales básicas de ejemplo incluyen sales de amonio, sales de metales alcalinos tales como sales de sodio, litio y potasio; sales de metales alcalinotérreos tales como sales de calcio y magnesio; sales de bario, zinc y aluminio; sales con bases orgánicas (por ejemplo, aminas orgánicas) tales como trialkilaminas tales como trietilamina, procaína, dibencilamina, N-bencilo-β-fenetilamina, 1-efenamina, N, N'-dibenciletileno-diamina, deshidroabietilamina, N-etilpiperidina, bencilamina, dicitclohexilamina o aminas y sales farmacéuticamente aceptables similares con aminoácidos tales como arginina, lisina y similares. Los grupos que contienen nitrógeno básico pueden cuaternizarse con agentes tales como haluros de alquilo inferior (p. ej., cloruros, bromuros y yoduros de metilo, etilo, propilo y butilo), sulfatos de dialquilo (p. ej., sulfatos de dimetilo, dietilo, dibutilo y diamilo), haluros de cadena larga (p. ej., cloruros, bromuros y yoduros de decilo, laurilo, miristilo y estearilo), haluros de aralkilo (p. ej., bromuros de bencilo y fenetilo) y otros.

Los compuestos de la Fórmula (I) se pueden proporcionar como sólidos amorfos o sólidos cristalinos. La liofilización se puede emplear para proporcionar los compuestos de

la Fórmula (I) como un sólido.

Además, debe entenderse que los solvatos (p. ej., hidratos) de los Compuestos de la Fórmula (I) también están dentro del alcance de la presente invención. El término “solvato” significa una asociación física de un compuesto de la Fórmula (I) con una o más moléculas de solvente, ya sean orgánicas o inorgánicas. Esta asociación física incluye enlaces de hidrógeno. En ciertos casos el solvato será capaz de aislarse, por ejemplo, cuando una o más moléculas de solvente se incorporan en la estructura cristalina del sólido cristalino. “Solvato” abarca tanto la fase de solución como los solvatos aislables. Solvatos de ejemplo incluyen hidratos, etanolatos, metanolatos, isopropanolatos, solvatos de acetonitrilo y solvatos de acetato de etilo. Los métodos de solvatación son conocidos en la técnica.

Varias formas de profármacos son bien conocidas en la técnica y se describen en Rautio, J., *Nature Review Drug Discovery*, 17, 559-587 (2018).

Además, los compuestos de la Fórmula (I), subsiguientes a su preparación, se pueden aislar y purificar para obtener una composición que contenga una cantidad en peso igual o superior al 99 % de un compuesto de la Fórmula (I) (“sustancialmente puro”), que luego se usa o formula como se describe en este documento. Tales compuestos “sustancialmente puros” de la Fórmula (I) también se contemplan en el presente documento como parte de la presente invención.

El término “compuesto estable” o “estructura estable” pretende indicar un compuesto que es suficientemente robusto para sobrevivir al aislamiento en un grado útil de pureza de una mezcla de reacción, y formulación en un agente terapéutico eficaz. La presente invención pretende incorporar compuestos estables.

El término “inhibidor de Helios” se refiere a un agente capaz de disminuir los niveles de proteína de Helios, disminuir el nivel de actividad de Helios y/o inhibir el nivel de expresión de Helios en las células para controlar la diferenciación de Treg. El inhibidor de Helios puede ser un inhibidor reversible o irreversible.

Como se usa en el presente documento, la proteína “Helios” se refiere a una proteína que es miembro de la familia Ikaros de proteínas de dedos de zinc. En humanos, Helios está codificada por el gen IKZF2. Helios también se conoce como dedo de zinc 2 de la familia IKAROS, ANF1A2, ZNF1A2, ZNFN1A2, proteína de dedo de zinc, subfamilia 1A, 2 y proteína de dedo de zinc 2 de la familia Ikaros. Los miembros de esta

familia de proteínas incluyen Ikaros, Helios, Aiolos, Eos y Pegasus. Como se usa en este documento, la proteína Helios incluye varias isoformas, que incluyen las isoformas 1-5 enumeradas a continuación.

Isoforma 1 (UniProt Q9UKS7-1)

5 METEAIDGYITCDNELSPEREHSNMAIDLTSSTPNGQHASP SHMTSTNSVKLEMQSDEEC
 DRKPLSREDEIRGHDEGSSLEEPLIESSEVADNRKVQELQEGGGIRLPNGKCLKDCVCGMV
 CIGPNVLMVHKRSHTGERP **FHCNQCGASFTQKGNLLRHIKHLH**SGEKPFKC PFCSYACRRR
 DALTGHLRTHSVGKPHKCN YCGRSYKQRSSLEE HKERCHNYLQNVSM EAAGQVM SHHVP
 MEDCKEQEPIMDNNISLVPFERPAVIEKLTGNMGKRKSSTPQKFVGEKLMRFSYPDIHFD
 10 MNLTYEKEAELMQSHMMDQAINNAITYLGAEALHPLMQHPPSTIAEVAPVISSAYSQVYH
 PNRIERPISRETADSHENNMDGPISLIRPKSRPQEREASPSNSCLDSTDSESSHDDHQSY
 QGHPALNPKRKQSPAYMKEDVKALDTTKAPKGS LKDIYKVFNGEGEQIRAFKCEHCRVLF
 LDHVMYTIHMGCHGYRDPLECNICGYRSQDRYEFSSHIVRGEHTFH (SEQ ID NO:
 1)

15

Isoforma 2 (UniProt Q9UKS7-2)

METEAIDGYITCDNELSPEREHSNMAIDLTSSTPNGQHASP SHMTSTNSVKLEMQSDEEC
 DRKPLSREDEIRGHDEGSSLEEPLIESSEVADNRKVQELQEGGGIRLPNGERP **FHCNQCG**
ASFTQKGNLLRHIKHLHSGEKPFKC PFCSYACRRRDAL TGHLRTHSVGKPHKCN YCGRSYK
 20 QRSSLEE HKERCHNYLQNVSM EAAGQVM SHHVP PMEDCKEQEPIMDNNISLVPFERPAV
 IEKLTGNMGKRKSSTPQKFVGEKLMRFSYPDIHFD MNLTYEKEAELMQSHMMDQAINNAIT
 YLGAEALHPLMQHPPSTIAEVAPVISSAYSQVYHPNRIERPISRETADSHENNMDGPISL
 IRPKSRPQEREASPSNSCLDSTDSESSHDDHQSYQGHPALNPKRKQSPAYMKEDVKALDT
 TKAPKGS LKDIYKVFNGEGEQIRAFKCEHCRVLF LDHVMYTIHMGCHGYRDPLECNICGY
 25 RSQDRYEFSSHIVRGEHTFH (SEQ ID NO: 2)

Isoforma 4 (UniProt Q9UKS7-4)

METEAIDGYITCDNELSPEREHSNMAIDLTSSTPNGQHASP SHMTSTNSVKLEMQSDEEC
 DRKPLSREDEIRGHDEGSSLEEPLIESSEVADNRKVQELQEGGGIRLPNGERP **FHCNQCG**
 30 **ASFTQKGNLLRHIKHLH**SGEKPFKC PFCSYACRRRDAL TGHLRTHSVGKPHKCN YCGRSYK
 QRSSLEE HKERCHNYLQNVSM EAAGQVM SHHGEKLMRFSYPDIHFD MNLTYEKEAELMQS
 HMMDQAINNAITYLGAEALHPLMQHPPSTIAEVAPVISSAYSQVYHPNRIERPISRETAD
 SHENNMDGPISLIRPKSRPQEREASPSNSCLDSTDSESSHDDHQSYQGHPALNPKRKQSP
 AYMKE DVKALDTTKAPKGS LKDIYKVFNGEGEQIRAFKCEHCRVLF LDHVMYTIHMGCHG
 35 YRDPLECNICGYRSQDRYEFSSHIVRGEHTFH (SEQ ID NO: 3)

Isoforma 6 (UniProt Q9UKS7-6)

METEAIDGYITCDNELSPEREHSNMAIDLTSSTPNGQHASP SHMTSTNSVKLEMQSDEEC
 DRKPLSREDEIRGHDEGSSLEEPLIESSEVADNRKVQELQEGGGIRLPNGKCLKDCVCGMV
 40 CIGPNVLMVHKRSHTGERP **FHCNQCGASFTQKGNLLRHIKHLH**SGEKPFKC PFCSYACRRR
 DALTGHLRTHSVGKPHKCN YCGRSYKQRSSLEE HKERCHNYLQNVSM EAAGQVM SHHDS
 (SEQ ID NO: 4)

Isoforma 7 (UniProt Q9UKS7-7)

METEAIDGYITCDNELSPEREHSNMAIDLTSSTPNGQHASP SHMTSTNSVKLEMQSDEEC
 DRKPLSREDEIRGHDEGSSLEEPLIESSEVADNRKVQELQGEGGIRLPNGERP **FHCNQCG**
ASFTQKGNLLRHIKHLHSGEKPFKCPCFCSYACRRRDALTGHLRTHSVPPMEDCKEQEPIMD
 NNISLVPFERPAVIEKLTGNMGKRKSSTPQKFVGEKLMRFSYPDIHFDMNLTYEKEAELM
 5 QSHMMDQAINNAITYLGAEALHPLMQHPPSTIAEVAPVISSAYSQVYHPNRIERPISRET
 ADSHENMDGPISLIRPKSRPQEREASPSNSCLDSTDSESSHDDHQSYQGH PALNPKRKQ
 SPAYMKEDVKALDTTKAPKGS LKDIYKVFNGEGEQIRAFKCEHCRVLF LDHVMYTIHMG
 HGYRDPLECNICGYRSQDRYEFSSHIVRGEHTFH (SEQ ID NO: 5)

- 10 Las isoformas 1, 2, 4, 6 y 7 de “Helios” enumeradas anteriormente incluyen el degran
 FHCNQCGASFTQKGNLLRHIKHLH (SEQ ID NO: 6) (negrita y subrayado). Un degran
 es una porción de una proteína que juega un papel en la regulación de las tasas de
 degradación de proteínas.

- Como se usa en este documento, la proteína “Eos” está codificada por el gen
 15 IKZF4 y también se conoce como dedos de zinc 4 de la familia IKAROS, ZNFN1A4,
 proteína con dedos de zinc, subfamilia 1A, 4, proteína con dedos de zinc 4 de la familia
 Ikaros y KIAA1782. La proteína “Eos” incluye isoformas codificadas por las siguientes
 dos isoformas humanas 1 (Q9H2S9-1) y 2 (Q9H2S9-2):

Isoforma 1 (UniProt Q9H2S9-1)

- 20 MHTPPALPRRFQGGGRVTPGSHRQGKDNLERDPSGGCVPDFLPQAQDSNHFIMESLFCE
 SSGDSSLEKEFLGAPVGPSVSTPNSQHSSPSRSLANSIKVEMYSDEESSRLLGPDERLL
 EKDDSVIVEDSLSEPLGYCDGSGPEPHSPGGIRLPNGKLC DVCGMVCIGPNVLMVHKRS
 HTGERP **FHCNQCGASFTQKGNLLRHIKHLH**SGEKPFKCPCFCNYACRRRDALTGHLRTHSVS
 SPTVGKPYKCN YCGRSYKQOSTLEE HKERCHNYLQSLSTEAQALAGQPGDEIRDLEMVPD
 25 SMLHSSSERPTFIDRLANSLTKRKRSTPQKFVGEKQMRFSLS DLPYDVNSGGYEKDV ELV
 AHHSLEPGFGSSLA FVGAEHLRPLRLPPTNCISELTPVISSVYTQMQLPGRLELPGSRE
 AGE GPEDLADGGPLLYRPRG PLTDPGASPSNGCQDSTDTE SNHEDRVAGVVS LPPQPPPQ
 PPPTIVVGRHSPAYAKEDPKPQEGLLRGTPGPSKEVLRVVGESGEPVKAFAKCEHCRILFL
 DHVMFTIHMGC HGF RDPFECNICGYHSQDRYEFSSHIVRGEHKVG (SEQ ID NO: 7)

30

Isoforma 2 (UniProt Q9H2S9-2)

- MDSRYLQLQLYLPSCSLLQSGDSSLEKEFLGAPVGPSVSTPNSQHSSPSRSLANSIKV
 EMYSDEESSRLLGPDERLLEKDDSVIVEDSLSEPLGYCDGSGPEPHSPGGIRLPNGKLC
 DVCGMVCIGPNVLMVHKRSHTGERP **FHCNQCGASFTQKGNLLRHIKHLH**SGEKPFKCPCFCN
 35 YACRRRDALTGHLRTHSVSSPTVGKPYKCN YCGRSYKQOSTLEE HKERCHNYLQSLSTEA
 QALAGQPGDEIRDLEMVPDSMLHSSSERPTFIDRLANSLTKRKRSTPQKFVGEKQMRFSLS
 SDLPYDVNSGGYEKDV ELVAHHSLEPGFGSSLA FVGAEHLRPLRLPPTNCISELTPVISS
 VYTQMQLPGRLELPGSREAGE GPEDLADGGPLLYRPRG PLTDPGASPSNGCQDSTDTE S
 NHEDRVAGVVS LPPQPPPQPPPTIVVGRHSPAYAKEDPKPQEGLLRGTPGPSKEVLRVVG
 40 ESGEPVKAFAKCEHCRILFLDHVMFTIHMGC HGF RDPFECNICGYHSQDRYEFSSHIVRGE
 HKVG (SEQ ID NO: 8)

Las isoformas de proteína “Eos” 1 y 2 enumeradas anteriormente incluyen el degron **FHCNQCGASFTQKGNLLRHIKLH** (SEC ID NO: 6) (en negrita y subrayado), que es el mismo que el degron de la proteína “Helios”.

Como se usa en este documento, la proteína “Ikaros” está codificada por el gen IKZF1. Ikaros también se conoce como dedos de zinc 1 de la familia IKAROS, ZNFN1A1, proteína con dedos de zinc, subfamilia 1A, 1, proteína con dedos de zinc 1 de la familia Ikaros, IK1, factor de transcripción linfocitoide LyF-1, Hs.54452, PPP1R92, proteína fosfatasa 1, subunidad reguladora 92, PRO0758, CVID13 y antígeno KW-6 asociado a CLL. La proteína Ikaros incluye isoformas codificadas por las secuencias de aminoácidos Q13422-1, Q13422-2, Q13422-3, Q13422-4, Q13422-7 y Q13422-8. La proteína Ikaros también incluye isoformas codificadas por las secuencias de aminoácidos Q13422-5 y Q13422-6.

Como se usa en este documento, la proteína “Aiolos” está codificada por el gen IKZF3. La proteína Aiolos también se conoce como dedos de zinc 3 de la familia IKAROS, ZNFN1A3, proteína con dedos de zinc, subfamilia 1A, 3, proteína con dedos de zinc 3 de la familia Ikaros y AIO. La proteína Aiolos incluye isoformas codificadas por las secuencias de aminoácidos Q9UKT9-1, Q9UKT9-3, Q9UKT9-4, Q9UKT9-6, Q9UKT9-7, Q9UKT9-8, Q9UKT9-9 y Q9UKT9-14. La proteína Aiolos también incluye isoformas codificadas por las secuencias de aminoácidos Q9UKT9-2, Q9UKT9-5, Q9UKT9-10, Q9UKT9-11, Q9UKT9-12 y Q9UKT9-13, Q9UKT9-15 y Q9UKT9-16.

Como se usa en este documento, la proteína “Pegasus” también se conoce como dedos de zinc 5 de la familia IKAROS, ZNFN1A5, proteína con dedos de zinc, subfamilia 1A, 5 y proteína con dedo de zinc 5 de la familia Ikaros. Pegasus está codificada por el gen IKZF5.

Como se usa en el presente documento, el término “poner en contacto” se refiere a la unión de fracciones indicadas en un sistema *in vitro* o un sistema *in vivo*. Por ejemplo, “poner en contacto” la proteína Helios con un compuesto de la Fórmula (I) incluye la administración de un compuesto de la presente invención a un individuo o paciente, tal como un ser humano, que tiene la proteína Helios, así como, por ejemplo, introducir un compuesto de la Fórmula (I) en una muestra que contiene una preparación celular o purificada que contiene la proteína Helios.

Los términos “tratar”, “que trata” y “tratamiento”, como se usan en este

documento, se refieren a cualquier tipo de intervención o proceso realizado o administración de un agente activo al sujeto con el objetivo de revertir, aliviar, mejorar, inhibir o ralentizar o prevenir la progresión, desarrollo, gravedad o recurrencia de un síntoma, complicación, condición o indicios bioquímicos asociados con una enfermedad.

- 5 Por el contrario, la “profilaxis” o “prevención” se refiere a la administración a un sujeto que no tiene una enfermedad para evitar que la enfermedad ocurra. “Tratar” y “tratamiento” no abarca la profilaxis o la prevención.

La “cantidad terapéuticamente eficaz” pretende incluir una cantidad de un compuesto de la presente invención solo o una cantidad de la combinación de compuestos reivindicados o una cantidad de un compuesto de la presente invención en combinación
10 con otros principios activos eficaces para disminuir la concentración de proteína Helios, disminuir los niveles de actividad de Helios y/o inhibir los niveles de expresión de Helios en las células, o es eficaz para tratar o prevenir infecciones virales y trastornos proliferativos, tales como el cáncer.

- 15 Como se usa en este documento, el término “célula” se refiere a una célula que está *in vitro*, *ex vivo* o *in vivo*. En algunas modalidades, una célula *ex vivo* puede ser parte de una muestra de tejido extirpada de un organismo tal como un mamífero. En algunas modalidades, una célula *in vitro* puede ser una célula en un cultivo celular. En algunas modalidades, una célula *in vivo* es una célula que vive en un organismo tal como un
20 mamífero.

El término “paciente” incluye sujetos humanos y otros mamíferos que reciben bien sea tratamiento terapéutico o profiláctico.

- El término “sujeto” incluye cualquier animal humano o no humano. Por ejemplo, los métodos y composiciones aquí descritos pueden usarse para tratar a un sujeto que
25 padece de cáncer. Un animal no humano incluye todos los vertebrados, p. ej., mamíferos y no mamíferos, incluidos primates no humanos, ovejas, perros, vacas, pollos, anfibios, reptiles, etc. En una modalidad, el sujeto es un sujeto humano.

- La frase “portador farmacéuticamente aceptable” como se usa en el presente documento significa un material farmacéuticamente aceptable, composición o vehículo, tal como una carga líquida o sólida, diluyente, excipiente, auxiliar de fabricación (p. ej.,
30 lubricante, talco de magnesio, calcio o estearato de zinc o ácido esteárico), o material de encapsulación solvente, implicado en llevar o transportar el compuesto objeto desde un

órgano, o porción del cuerpo, a otro órgano, o porción del cuerpo. Cada portador debe ser “aceptable” en el sentido de ser compatible con los otros ingredientes de la formulación, que incluyen, p. ej., adyuvante, excipiente o vehículo, como diluyentes, agentes conservantes, rellenos, agentes reguladores de flujo, agentes desintegrantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes, agentes de suspensión, agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes perfumantes, agentes antibacterianos, agentes antifúngicos, agentes lubricantes y agentes dispensadores, dependiendo de la naturaleza del modo de administración y las formas de dosificación; y no perjudicial para el paciente.

El término “composición farmacéutica” significa una composición que comprende un compuesto de la invención en combinación con al menos un portador adicional farmacéuticamente aceptable.

UTILIDAD

Los compuestos de la Fórmula (I) son útiles para el tratamiento contra el cáncer.

En una modalidad, la presente invención proporciona una preparación combinada de un compuesto de la Fórmula (I) y/o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un estereoisómero del mismo o un tautómero del mismo y agentes terapéuticos adicionales para su uso simultáneo, por separado o secuencial en el tratamiento y/o profilaxis de múltiples enfermedades o trastornos asociados con la actividad de la proteína Helios. La preparación combinada puede utilizarse para disminuir la concentración de proteína de Helios, el nivel de actividad de Helios y/o el nivel de expresión de Helios en las células para controlar la diferenciación de Treg.

Los compuestos para la Fórmula (I) y las composiciones farmacéuticas que comprenden al menos un compuesto de la Fórmula (I) son útiles para tratar o prevenir cualquier enfermedad o afección que esté asociada con la actividad de la proteína Helios. Estas incluyen infecciones virales y de otro tipo (p. ej., infecciones de la piel, infecciones GI, infecciones del tracto urinario, infecciones genitourinarias, infecciones sistémicas) y enfermedades proliferativas (p. ej., cáncer). Los compuestos de la Fórmula (I) y las composiciones farmacéuticas que comprenden al menos un compuesto de la Fórmula (I) se pueden administrar a animales, preferiblemente mamíferos (p. ej., animales domesticados, gatos, perros, ratones, ratas), y más preferiblemente seres humanos. Se puede usar cualquier método de administración para administrar el compuesto o la

composición farmacéutica al paciente. En ciertas modalidades, el compuesto de la Fórmula (I) o la composición farmacéutica que comprende al menos el compuesto de la Fórmula (I) se administra por vía oral. En otras modalidades, la Fórmula (I) o la composición farmacéutica que comprende al menos el compuesto de la Fórmula (I) se
5 administra por vía parenteral.

Los compuestos de la Fórmula (I) pueden disminuir selectivamente la concentración de proteína Helios, disminuir los niveles de actividad de Helios y/o inhibir los niveles de expresión de Helios en las células para controlar la diferenciación de Treg. Por ejemplo, los compuestos de la Fórmula (I) pueden usarse para disminuir
10 selectivamente los niveles de actividad de Helios y/o inhibir los niveles de expresión de Helios en las células para controlar la diferenciación de Treg en una célula o en un individuo que necesita una disminución en los niveles de proteína de Helios, una disminución de los niveles de actividad de Helios y/o la inhibición del nivel de expresión de Helios mediante la administración de una cantidad inhibidora de un compuesto de la
15 Fórmula (I) o una sal del mismo.

En un aspecto, el(los) compuesto(s) de la Fórmula (I) se administra secuencialmente antes de la administración del agente de inmunooncología. En otro aspecto, los compuestos de la Fórmula (I) se administran simultáneamente con el agente de inmunooncología. En otro aspecto más, los compuestos de la Fórmula (I) se
20 administran secuencialmente después de la administración del agente de inmunooncología.

En otro aspecto, los compuestos de la Fórmula (I) se pueden coformular con un agente de inmunooncología.

Los agentes de inmunooncología incluyen, por ejemplo, un fármaco de molécula
25 pequeña, un anticuerpo u otra molécula biológica o pequeña. Ejemplos de agentes de inmunooncología biológicos incluyen, pero sin limitarse a, vacunas contra el cáncer, anticuerpos y citoquinas. En un aspecto, el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal. En otro aspecto, el anticuerpo monoclonal es humanizado o humano.

En un aspecto, el agente inmunooncológico es (i) un agonista de un receptor
30 estimulante (incluyendo un coestimulador) o (ii) un antagonista de una señal inhibitoria (incluyendo un coinhibidor) en células T, ambos de los cuales resultan en la amplificación de respuestas de células T específicas de antígeno (a menudo conocidas como reguladores

del punto de comprobación inmunitario).

Ciertas moléculas estimulantes e inhibitorias son miembros de la superfamilia de inmunoglobulinas (IgSF). Una familia importante de ligandos unidos a la membrana que se unen a receptores coestimulantes o coinhibidores es la familia B7, que incluye B7-1, B7-2, B7-H1 (PD-L1), B7-DC (PD-L2), B7-H2 (ICOS-L), B7-H3, B7-H4, B7-H5 (VISTA) y B7-H6. Otra familia de ligandos unidos a la membrana que se unen a receptores coestimulantes o coinhibidores es la familia TNF de moléculas que se unen a miembros de la familia de receptores de TNF afines, que incluyen CD40 y CD40L, OX-40, OX-40L, CD70, CD27L, CD30, CD30L, 4-1BBL, CD137 (4-1BB), TRAIL/Apo2-L, TRAILR1/DR4, TRAILR2/DR5, TRAILR3, TRAILR4, OPG, RANK, RANKL, TWEAKR/Fn14, TWEAK, BAFFR, EDAR, XEDAR, TACI, APRIL, BCMA, LT β R, LIGHT, DcR3, HVEM, VEGI/TL1A, TRAMP/DR3, EDAR, EDA1, XEDAR, EDA2, TNFR1, Linfotóxina α /TNF β , TNFR2, TNF α , LT β R, Linfotóxina α 1 β 2, FAS, FASL, RELT, DR6, TROY, NGFR.

En un aspecto, las respuestas de las células T pueden ser estimuladas por una combinación de un compuesto de la Fórmula (I) y uno o más de (i) un antagonista de una proteína que inhibe la activación de las células T (p. ej., inhibidores del punto de aprobación inmunitario) tales como CTLA 4, PD-1, PD-L1, PD-L2, LAG-3, TIM-3, Galectina 9, CEACAM-1, BTLA, CD69, Galectina-1, TIGIT, CD113, GPR56, VISTA, 2B4, CD48, GARP, PD1H, LAIR1, TIM-1 y TIM-4, y (ii) un agonista de una proteína que estimula la activación de las células T, tal como B7-1, B7-2, CD28, 4-1BB (CD137), 4-1BBL, ICOS, ICOS-L, OX40, OX40L, GITR, GITRL, CD70, CD27, CD40, DR3 y CD28H.

Otros agentes que pueden combinarse con compuestos de la Fórmula (I) para el tratamiento del cáncer incluyen antagonistas de receptores inhibidores en células NK o agonistas de receptores de activación en células NK. Por ejemplo, los compuestos de la Fórmula (I) se pueden combinar con antagonistas de KIR, como lirilumab.

Aún otros agentes para terapias de combinación incluyen agentes que inhiben o agotan macrófagos o monocitos, que incluyen pero no se limitan a antagonistas de CSF-1R tales como anticuerpos antagonistas de CSF-1R que incluyen RG7155 (WO11/70024, WO11/107553, WO11/131407, WO13/87699, WO13/119716, WO13/132044) o FPA-008 (WO11/140249; WO13169264; WO14/036357).

En otro aspecto, los compuestos de la Fórmula (I) se pueden usar con uno o más agentes agonistas que ligan receptores coestimuladores positivos, agentes de bloqueo que atenúan la señalización a través de receptores inhibidores, antagonistas y uno o más agentes que aumentan sistémicamente la frecuencia de las células T antitumorales, agentes que superan las distintas vías inmunosupresoras dentro del microambiente tumoral (p. ej., bloquean el compromiso del receptor inhibidor (p. ej., las interacciones PD-L1/PD-1), agotan o inhiben Treg (p. ej., utilizando un anticuerpo monoclonal anti-CD25 (p. ej., daclizumab) o por agotamiento de perlas anti-CD25 ex vivo), inhiben enzimas metabólicas como IDO, o revierten/previene la anergia o agotamiento de células T y agentes que desencadenan la activación inmune innata y/o inflamación en los sitios tumoral.

En un aspecto, el agente inmunooncológico es un antagonista de CTLA-4, tal como un anticuerpo antagonista de CTLA-4. Los anticuerpos CTLA-4 adecuados incluyen, por ejemplo, YERVOY (ipilimumab) o tremelimumab.

En otro aspecto, el agente inmunooncológico es un antagonista de PD-1, tal como un anticuerpo antagonista de PD-1. Los anticuerpos PD-1 adecuados incluyen, por ejemplo, OPDIVOTM (nivolumab), KEYTRUDATM (pembrolizumab), o MEDI-0680 (AMP-514; WO2012/145493). El agente de inmunooncología también puede incluir pidilizumab (CT-011), aunque se ha cuestionado su especificidad para la unión de PD-1. Otro enfoque para dirigirse al receptor PD-1 es la proteína recombinante compuesta por el dominio extracelular de PD-L2 (B7-DC) fusionada a la porción Fc de IgG1, llamada AMP-224

En otro aspecto, el agente inmunooncológico es un antagonista de PD-L1, tal como un anticuerpo antagonista de PD-L1. Los anticuerpos PD-L1 adecuados incluyen, por ejemplo, MPDL3280A (RG7446; WO2010/077634), durvalumab (MEDI4736), BMS-936559 (WO207/005874) y MSB0010718C (WO2013/79174).

En otro aspecto, el agente inmunooncológico es un antagonista de LAG-3, tal como un anticuerpo antagonista de LAG-3. Anticuerpos LAG3 adecuados incluyen, por ejemplo, BMS-986016 (WO10/19570, WO14/08218), o IMP-731 o IMP-321 (WO08/132601, WO09/44273).

En otro aspecto, el agente de inmunooncología es un agonista de CD137 (4-1BB), tal como un anticuerpo agonista CD137. Anticuerpos CD137 adecuados incluyen, por

ejemplo, urelumab y PF-05082566 (WO12/32433).

En otro aspecto, el agente de inmunooncología es un agonista de GITR, tal como un anticuerpo agonista de GITR. Los anticuerpos GITR adecuados incluyen, por ejemplo, BMS-986153, BMS-986156, TRX-518 (WO06/105021, WO09/009116) y MK-4166

5 (WO11/028683).

En otro aspecto, el agente de inmunooncología es un antagonista de IDO. Los antagonistas de IDO adecuados incluyen, por ejemplo, INCB-024360 (WO206/122150, WO07/75598, WO08/36653, WO08/36642), indoximod o NLG-919 (WO09/73620, WO09/1156652, WO11/56652, WO12/142237).

10 En otro aspecto, el agente inmunooncológico es un agonista de OX40, tal como un anticuerpo OX40 agonista. Los anticuerpos OX40 adecuados incluyen, por ejemplo, MEDI-6383 o MEDI-6469.

En otro aspecto, el agente inmunooncológico es un antagonista de OX40L, tal como un anticuerpo antagonista de OX40. Los antagonistas de OX40L adecuados

15 incluyen, por ejemplo, RG-7888 (WO06/029879).

En otro aspecto, el agente de inmunooncología es un agonista de CD40, tal como un anticuerpo agonista de CD40. En otra modalidad más, el agente de inmunooncología es un antagonista CD40, tal como un anticuerpo de CD40 antagonista. Los anticuerpos CD40 adecuados incluyen, por ejemplo, lucatumumab o dacetuzumab.

20 En otro aspecto, el agente de inmunooncología es un agonista de CD27, tal como un anticuerpo agonista de CD27. Los anticuerpos CD27 adecuados incluyen, por ejemplo, varlilumab.

En otro aspecto, el agente de inmunooncología es MGA271 (a B7H3) (WO11/109400).

25 La terapia de combinación pretende abarcar la administración de estos agentes terapéuticos de manera secuencial, es decir, en donde cada agente terapéutico se administra en un momento diferente, así como también la administración de estos agentes terapéuticos, o al menos dos de los agentes terapéuticos, en una forma sustancialmente simultánea. La administración sustancialmente simultánea se puede lograr, por ejemplo,

30 al administrar al sujeto una forma de dosificación única que tiene una proporción fija de cada agente terapéutico o en formas de dosificación única y múltiple para cada uno de los agentes terapéuticos. La administración secuencial o sustancialmente simultánea de cada

agente terapéutico puede efectuarse mediante cualquier vía apropiada que incluye, pero no se limita a, vías orales, vías intravenosas, vías intramusculares y absorción directa a través de los tejidos de la membrana mucosa. Los agentes terapéuticos pueden administrarse mediante la misma ruta o por rutas diferentes. Por ejemplo, un primer

5 agente terapéutico de la combinación seleccionada puede administrarse por inyección intravenosa, mientras que los otros agentes terapéuticos de la combinación pueden administrarse por vía oral. Alternativamente, por ejemplo, todos los agentes terapéuticos pueden administrarse por vía oral o todos los agentes terapéuticos pueden administrarse por inyección intravenosa. La terapia de combinación también puede abarcar la

10 administración de los agentes terapéuticos como se describió anteriormente en combinación adicional con otros ingredientes biológicamente activos y terapias no farmacológicas (p. ej., cirugía o tratamiento de radiación). Cuando la terapia de combinación comprende además un tratamiento no farmacológico, el tratamiento no farmacológico puede llevarse a cabo en cualquier momento adecuado siempre que se

15 logre un efecto beneficioso de la acción conjunta de la combinación de los agentes terapéuticos y el tratamiento no farmacológico. Por ejemplo, en casos apropiados, el efecto beneficioso se logra todavía cuando el tratamiento no farmacológico se retira temporalmente de la administración de los agentes terapéuticos, quizás por días o incluso semanas.

20 Los tipos de cánceres que pueden tratarse con el compuesto de la Fórmula (I) incluyen, pero no se limitan a, cánceres cerebrales, cánceres de piel, cánceres de vejiga, cánceres de ovario, cánceres de mama, cánceres gástricos, cánceres pancreáticos, cánceres de próstata, cáncer de colon, cánceres de sangre, cáncer de pulmón y cáncer de hueso. Ejemplos de tales tipos de cáncer incluyen neuroblastoma, carcinoma de intestino,

25 como carcinoma de recto, carcinoma de colon, carcinoma de poliposis adenomatosa familiar y cáncer colorrectal hereditario no polipósico, carcinoma de esófago, carcinoma labial, carcinoma de laringe, carcinoma de hipofaringe, carcinoma de lengua, carcinoma de la glándula salival, carcinoma gástrico, adenocarcinoma, carcinoma medular de tiroides, carcinoma papilar de tiroides, carcinoma renal, carcinoma de parénquima renal,

30 carcinoma de ovario, carcinoma de cervix, carcinoma de cuerpo uterino, carcinoma de endometrio, carcinoma de corion, carcinoma de páncreas, carcinoma de próstata, carcinoma de tórax, carcinoma de mama, carcinoma urinario, melanoma, tumores

cerebrales tales como glioblastoma, astrocitoma, meningioma, meduloblastoma y tumores neuroectodérmicos periféricos, linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, linfoma de Burkitt, leucemia linfática aguda (LLA), leucemia linfática crónica (CLL), leucemia mieloide aguda (LMA) leucemia mieloide crónica (LMC), linfoma/leucemia de células T del adulto, linfoma difuso de células B grandes (DLBCL), carcinoma hepatocelular, carcinoma de vesícula biliar, carcinoma bronquial, carcinoma de pulmón de células pequeñas, carcinoma de pulmón de células no pequeñas, mieloma múltiple, basalioma, teratoma, retinoblastoma, melanoma de la coroides, seminoma, rabdomioscopiosis, craneofaringioma, osteosarcoma, condrosarcoma, miosarcoma, liposarcoma, fibrosarcoma, sarcoma de Ewing y plasmocitoma.

Uno o más agentes farmacéuticos o métodos de tratamiento adicionales como, por ejemplo, agentes antivirales, quimioterapéuticos u otros agentes anticancerosos, potenciadores inmunológicos, inmunosupresores, radiación, vacunas antitumorales y antivíricas, terapia con citoquinas (p. ej., IL2 y GM-CSF), y/o inhibidores de la tirosina quinasa pueden usarse opcionalmente en combinación con los compuestos de la Fórmula (I) para el tratamiento de enfermedades, trastornos o afecciones asociadas con la proteína Helios. Los agentes pueden combinarse con los presentes compuestos en una forma de dosificación única, o los agentes pueden administrarse simultánea o secuencialmente como formas de dosificación separadas.

Los agentes quimioterapéuticos adecuados u otros agentes anti- cancerígenos incluyen, por ejemplo, agentes alquilantes (que incluyen, sin limitación, mostazas nitrogenadas, derivados de etilenimina, alquilsulfonatos, nitrosoureas y triazenos) tales como uracilo mostaza, clormetina, ciclofosfamida (CITOXANTM), ifosfamida, melfalano, clorambucilo, pipobromano, trietilen-melamina, trietilenotiofosforamina, busulfán, carmustina, lomustina, estreptozocina, dacarbazina y temozolomida.

En el tratamiento del melanoma, los agentes adecuados para su uso en combinación con los compuestos de la Fórmula (I) incluyen: dacarbazina (DTIC), opcionalmente, junto con otros fármacos de quimioterapia como carmustina (BCNU) y cisplatino; el “régimen de Dartmouth”, que consiste en DTIC, BCNU, cisplatino y tamoxifeno; una combinación de cisplatino, vinblastina y DTIC, temozolomida o YERVOYTM. Los compuestos de la Fórmula (I) también pueden combinarse con fármacos inmunoterapéuticos, que incluyen citoquinas como el interferón alfa,

interleucina 2 y el factor de necrosis tumoral (TNF) en el tratamiento del melanoma.

Los compuestos de la Fórmula (I) también se pueden usar en combinación con la terapia de vacunas en el tratamiento del melanoma. Las vacunas de antimelanoma son, en cierto modo, similares a las vacunas de antiviruses que se usan para prevenir enfermedades causadas por virus como poliomielitis, sarampión y paperas. Se pueden inyectar células de melanoma debilitadas o partes de células de melanoma llamadas antígenos en un paciente para estimular el sistema inmunológico del cuerpo para destruir las células de melanoma.

Los melanomas que se limitan a los brazos o piernas también pueden tratarse con una combinación de agentes que incluyen uno o más compuestos de la Fórmula (I), utilizando una técnica de perfusión de extremidades aisladas hipertérmicas. Este protocolo de tratamiento separa temporalmente la circulación de la extremidad afectada del resto del cuerpo e inyecta altas dosis de quimioterapia en la arteria que alimenta la extremidad, proporcionando así altas dosis al área del tumor sin exponer a los órganos internos a estas dosis que de otro modo podrían causar severos efectos secundarios. Por lo general, el fluido se calienta a 38,9° C a 40° C. El melfalán es el fármaco que se usa con más frecuencia en este procedimiento de quimioterapia. Esto se puede proporcionar con otro agente llamado factor de necrosis tumoral (TNF).

Agentes quimioterapéuticos adecuados u otros agentes anticancerígenos incluyen, por ejemplo, antimetabolitos (que incluyen, sin limitación, antagonistas del ácido fólico, análogos de pirimidina, análogos de purina e inhibidores de la adenosina desaminasa) tales como metotrexato, 5-fluorouracilo, floxuridina, citarabina, 6-mercaptopurina, 6-tioguanina, fosfato de fludarabina, pentostatina y gemcitabina.

Los agentes quimioterapéuticos adecuados u otros agentes anticancerígenos incluyen además, por ejemplo, ciertos productos naturales y sus derivados (por ejemplo, alcaloides de la vinca, antibióticos antitumorales, enzimas, linfocinas y epipodofilotoxinas) tales como vinblastina, vincristina, vindesina, bleomicina, dactinomicina, daunorubicina, doxorubicina, epirubicina, idarubicina, ara-C, paclitaxel (Taxol), mitramicina, desoxi-formicina, mitomicina-C, L-asparaginasa, interferones (especialmente IFN- α), etopósido y tenipósido.

Otros agentes citotóxicos incluyen navelbeno, CPT-11, anastrozol, letrozol, capecitabina, reloxafine y droloxafine.

También son adecuados los agentes citotóxicos tales como la epidofilotoxina; una enzima antineoplásica; un inhibidor de la topoisomerasa; procarbazona; mitoxantrona; complejos de coordinación de platino tales como cisplatino y carboplatino; modificadores de la respuesta biológica; inhibidores del crecimiento; agentes terapéuticos

5 antihormonales; leucovorina; tegafur; y factores de crecimiento hematopoyético.

Otro(s) agente(s) contra el cáncer incluyen terapias de anticuerpos tales como trastuzumab (HERCEPTIN®), anticuerpos contra moléculas coestimuladoras tales como CTLA-4, 4-1BB y PD-1, o anticuerpos contra citoquinas (IL-10 o TGF- β) .

10 Otros agentes anticancerígenos también incluyen aquellos que bloquean la migración de células inmunitarias, tales como antagonistas de los receptores de quimiocinas, que incluyen CCR2 y CCR4.

Otros agentes anticancerígenos también incluyen aquellos que aumentan el sistema inmunológico, tales como adyuvantes o transferencia de células T adoptivas.

15 Las vacunas anticancerígenas incluyen células dendríticas, péptidos sintéticos, vacunas de ADN y virus recombinantes.

La composición farmacéutica de la invención puede incluir opcionalmente al menos un inhibidor de transducción de señales (STI). Un “inhibidor de transducción de señales” es un agente que inhibe selectivamente uno o más pasos vitales en las vías de señalización, en la función normal de células cancerígenas, lo que lleva a la apoptosis.

20 Los STI adecuados incluyen, pero no se limitan a: (i) inhibidores de la quinasa bcr/abl tales como, por ejemplo, STI 571 (GLEEVEC™); (ii) inhibidores del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGF) tales como, por ejemplo, inhibidores de la quinasa (IRESSA™, OSI -774) y anticuerpos (Imclone: C225 [Goldstein, *Clin. Cancer Res.*, 1:1311-1318 (1995)], y Abgenix: ABX-EGF); (iii) inhibidores del receptor her-2/neu, 25 tales como inhibidores de la farnesil transferasa (FTI), como, por ejemplo, L-744,832 (Kohl, *Nat. Med.*, 1 (8): 792-797(1995)); (iv) inhibidores de las quinasas de la familia Akt o la vía de Akt, como, por ejemplo, la rapamicina (véase, por ejemplo, Sekulic, *Cancer Res.*, 60: 3504-3513 (2000)); (v) inhibidores de la quinasa del ciclo celular tales como, por ejemplo, flavopiridol y UCN-O1 (véase, por ejemplo, Sausville, *Curr. Med. Chem. Anti-* 30 *Canc. Agents*, 3:47-56 (2003)); y (vi) inhibidores de fosfatidil inositol quinasa tales como, por ejemplo, LY294002 (véase, por ejemplo, Vlahos, *J. Biol. Chem.*, 269:5241-5248 (1994)). Alternativamente, al menos un STI y al menos un compuesto de la Fórmula (I)

pueden estar en composiciones farmacéuticas separadas. En una modalidad específica de la presente invención, al menos un compuesto de la Fórmula (I) y al menos un STI pueden administrarse al paciente de forma concurrente o secuencial. En otras palabras, al menos un compuesto de la Fórmula (I) puede administrarse primero, al menos un STI

5 puede administrarse primero, o al menos un compuesto de la Fórmula (I) y al menos un STI puede administrarse al mismo tiempo. Además, cuando se usa más de un compuesto de la Fórmula (I) y/o STI, los compuestos pueden administrarse en cualquier orden.

La presente invención proporciona además una composición farmacéutica para el tratamiento de una infección viral crónica en un paciente que comprende al menos un

10 compuesto de la Fórmula (I), opcionalmente, al menos un fármaco quimioterapéutico y, opcionalmente, al menos un agente antiviral, en un portador farmacéuticamente aceptable.

También se proporciona un método para tratar una infección viral crónica en un paciente administrando una cantidad eficaz de la composición farmacéutica anterior.

15 En una modalidad específica de la presente invención, al menos un compuesto de la Fórmula (I) y al menos un agente quimioterapéutico se administran al paciente de forma concurrente o secuencial. En otras palabras, al menos un compuesto de la Fórmula (I) puede administrarse primero, al menos un agente quimioterapéutico puede administrarse primero, o al menos un compuesto de la Fórmula (I) y al menos un STI

20 puede administrarse al mismo tiempo. Además, cuando se usa más de un compuesto de la Fórmula (I) y/o agente quimioterapéutico, los compuestos pueden administrarse en cualquier orden. De manera similar, cualquier agente antiviral o STI también se puede administrar en cualquier punto en comparación con la administración del compuesto de la Fórmula (I).

25 Las infecciones virales crónicas que pueden tratarse con el presente tratamiento combinatorio incluyen, pero no se limitan a, enfermedades causadas por: virus de la hepatitis C (VHC), virus del papiloma humano (VPH), citomegalovirus (CMV), virus del herpes simple (HSV), Virus de Epstein-Barr (EBV), virus de la varicela zoster, virus coxsackie, virus de la inmunodeficiencia humana (VIH).

30 Agentes antivíricos adecuados contemplados para su uso en combinación con el compuesto de la Fórmula (I) pueden comprender inhibidores de la transcriptasa inversa nucleósidos y nucleótidos (NRTIs), inhibidores de la transcriptasa inversa no nucleósidos

(INNTR), inhibidores de la proteasa y otros fármacos antivirales.

Ejemplos de NRTIs adecuados incluyen zidovudina (AZT); didanosina (ddl); zalcitabina (ddC); estavudina (d4T); lamivudina (3TC); abacavir (1592U89); adefovir dipivoxil [bis (POM) -PMEA]; lobucavir (BMS-180194); BCH-I0652; emitricitabina [(-) - FTC]; beta-L-FD4 (también llamado beta-L-D4C y denominado beta-L-2', 3'-dicleoxi-5-fluoro-citideno); DAPD, ((-)-beta-D-2,6-diamino-purina dioxolano); y lodenosina (FddA). Los NNRTI adecuados típicos incluyen nevirapina (BI-RG-587); delaviradina (BHAP, U-90152); efavirenz (DMP-266); PNU-142721; AG-1549; MKC-442 (1-(etoximetil) -5- (1-metiletil) -6- (fenilmetil) - (2,4 (1H, 3H) -pirimidindiona) y (+)-calanolida A (NSC-675451)) y B. Los inhibidores de proteasa adecuados típicos incluyen saquinavir (Ro 31-8959); ritonavir (ABT-538); indinavir (MK-639); nelfnavir (AG-1343); amprenavir (141W94); lasinavir (BMS-234475); DMP-450; BMS -2322623; ABT-378 y AG-1549. Otros agentes antivirales incluyen hidroxiurea, ribavirina, IL-2, IL-12, pentafusida y Yisum Project No.11607.

La terapia de combinación pretende abarcar la administración de estos agentes terapéuticos de manera secuencial, es decir, en donde cada agente terapéutico se administra en un momento diferente, así como también la administración de estos agentes terapéuticos, o al menos dos de los agentes terapéuticos, en una forma sustancialmente simultánea. La administración sustancialmente simultánea se puede lograr, por ejemplo, al administrar al sujeto una forma de dosificación única que tiene una proporción fija de cada agente terapéutico o en formas de dosificación única y múltiple para cada uno de los agentes terapéuticos. La administración secuencial o sustancialmente simultánea de cada agente terapéutico puede efectuarse mediante cualquier vía apropiada que incluye, pero no se limita a, vías orales, vías intravenosas, vías intramusculares y absorción directa a través de los tejidos de la membrana mucosa. Los agentes terapéuticos pueden administrarse mediante la misma ruta o por rutas diferentes. Por ejemplo, un primer agente terapéutico de la combinación seleccionada puede administrarse por inyección intravenosa, mientras que los otros agentes terapéuticos de la combinación pueden administrarse por vía oral. Alternativamente, por ejemplo, todos los agentes terapéuticos pueden administrarse por vía oral o todos los agentes terapéuticos pueden administrarse por inyección intravenosa. La terapia de combinación también puede abarcar la administración de los agentes terapéuticos como se describió anteriormente en

combinación adicional con otros ingredientes biológicamente activos y terapias no farmacológicas (p. ej., cirugía o tratamiento de radiación). Cuando la terapia de combinación comprende además un tratamiento no farmacológico, el tratamiento no farmacológico puede llevarse a cabo en cualquier momento adecuado siempre que se logre un efecto beneficioso de la acción conjunta de la combinación de los agentes terapéuticos y el tratamiento no farmacológico. Por ejemplo, en casos apropiados, el efecto beneficioso se logra todavía cuando el tratamiento no farmacológico se retira temporalmente de la administración de los agentes terapéuticos, quizás por días o incluso semanas.

10

COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS

La invención también proporciona composiciones farmacéuticamente que comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de uno o más de los compuestos de la Fórmula (I), formulados junto con uno o más portadores (aditivos) y/o diluyentes farmacéuticamente aceptables, y opcionalmente, uno o más agentes terapéuticos descritos anteriormente.

Los compuestos de la Fórmula (I) pueden administrarse mediante cualquier vía adecuada, preferiblemente en la forma de una composición farmacéutica adaptada a tal vía, y en una dosis eficaz para el tratamiento previsto. Los compuestos y composiciones del compuesto de la Fórmula (I) pueden administrarse para cualquiera de los usos descritos en el presente documento por cualquier medio adecuado, por ejemplo, por vía oral, tales como comprimidos, cápsulas (cada una de las cuales incluye liberación sostenida o formulaciones de liberación controlada), píldoras, polvos, gránulos, elixires, tinturas, suspensiones (incluyendo nanosuspensiones, microsuspensiones, dispersiones secadas por atomización), jarabes, y emulsiones; por vía sublingual; bucal; parenteral, tal como por inyección subcutánea, intravenosa, intramuscular, o inyección intraesternal, o técnicas de infusión (p. ej., soluciones o suspensiones acuosas o no acuosas inyectables estériles); por vía nasal, incluyendo administración a las membranas nasales, tal como mediante pulverización para inhalación; por vía tópica, tal como en la forma de una crema o ungüento; o por vía rectal tal como en la forma de supositorios. Se pueden administrar solos, pero generalmente se administrarán con un portador farmacéutico seleccionado en base a la ruta de administración elegida y la práctica farmacéutica

30

estándar.

Para la administración oral, la composición farmacéutica puede estar en forma de, por ejemplo, una tableta, cápsula, cápsula líquida, suspensión o líquido. La composición farmacéutica se hace preferiblemente en forma de una unidad de dosificación que
5 contiene una cantidad particular del ingrediente activo. Por ejemplo, la composición farmacéutica se puede proporcionar como una tableta o cápsula que comprende una cantidad de ingrediente activo en el intervalo de 0,1 a 1000 mg aproximadamente, preferiblemente de 0,25 a 250 mg aproximadamente, y más preferiblemente de 0,5 a 100 mg aproximadamente. Una dosis diaria adecuada para un ser humano u otro mamífero
10 puede variar ampliamente dependiendo de la condición del paciente y otros factores, pero puede determinarse utilizando métodos de rutina.

Cualquier composición farmacéutica contemplada en este documento puede, por ejemplo, administrarse por vía oral a través de cualquier preparación oral aceptable y adecuada. Preparaciones orales de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, por ejemplo,
15 tabletas, trociscos, pastillas, suspensiones acuosas y aceitosas, polvos o gránulos dispersables, emulsiones, cápsulas duras y blandas, cápsulas líquidas, jarabes y elixires. Las composiciones farmacéuticas destinadas a la administración oral se pueden preparar de acuerdo con cualquier método conocido en la técnica para la fabricación de composiciones farmacéuticas destinadas a la administración oral. Con el fin de
20 proporcionar preparaciones farmacéuticamente agradables al paladar, una composición farmacéutica de acuerdo con la invención puede contener al menos un agente seleccionado entre agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes colorantes, demulcentes, antioxidantes y agentes conservantes.

Una tableta puede prepararse, por ejemplo, mezclando al menos un compuesto de
25 la Fórmula (I) y/o al menos una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con al menos un excipiente no tóxico farmacéuticamente adecuado para la fabricación de tabletas. Excipientes de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, por ejemplo, diluyentes inertes, tales como, por ejemplo, carbonato de calcio, carbonato de sodio, lactosa, fosfato de calcio y fosfato de sodio; agentes de granulación y desintegración, tales como, por
30 ejemplo, celulosa microcristalina, croscarmelosa de sodio, almidón de maíz y ácido algínico; agentes aglutinantes, tales como, por ejemplo, almidón, gelatina, polivinilpirrolidona y acacia; y agentes lubricantes, tales como, por ejemplo, estearato de

magnesio, ácido esteárico y talco. Además, una tableta puede no estar recubierta o recubierta mediante técnicas conocidas para enmascarar el mal sabor de un fármaco de sabor desagradable, o retrasar la desintegración y absorción del ingrediente activo en el tracto gastrointestinal, lo que mantiene los efectos del ingrediente activo durante un

5 período de más tiempo. Materiales de enmascaramiento del sabor solubles en agua de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, hidroxipropilmetilcelulosa e hidroxipropilcelulosa. Materiales de retardo de tiempo de ejemplo, incluyen, pero no se limitan a, etilcelulosa y acetato butirato de celulosa.

Las cápsulas de gelatina dura pueden prepararse, por ejemplo, mezclando al

10 menos un compuesto de la Fórmula (I) y/o al menos una de sus sales con al menos un diluyente sólido inerte, tal como, por ejemplo, carbonato de calcio; fosfato de calcio; y caolín.

Las cápsulas de gelatina blanda pueden prepararse, por ejemplo, mezclando al menos un compuesto de la Fórmula (I) y/o al menos una sal farmacéuticamente aceptable

15 del mismo con al menos un portador soluble en agua, tal como, por ejemplo, polietilenglicol; y al menos un medio de aceite, tal como, por ejemplo, aceite de cacahuete, parafina líquida y aceite de oliva.

Se puede preparar una suspensión acuosa, por ejemplo, mezclando al menos un compuesto de la Fórmula (I) y/o al menos una sal farmacéuticamente aceptable del

20 mismo con al menos un excipiente adecuado para la fabricación de una suspensión acuosa. Los excipientes de ejemplo adecuados para la fabricación de una suspensión acuosa incluyen, pero no se limitan a, por ejemplo, agentes de suspensión, tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa sódica, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, alginato de sodio, ácido algínico, polivinilpirrolidona, goma de tragacanto y goma arábiga; agentes

25 dispersantes o humectantes, tales como, por ejemplo, un fosfátido de origen natural, p. ej., lecitina; productos de condensación de óxido de alquileo con ácidos grasos, tales como, por ejemplo, estearato de polioxietileno; productos de condensación de óxido de etileno con alcoholes alifáticos de cadena larga, tales como, por ejemplo, heptadecaetileno-

oxietanol; productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados

30 de ácidos grasos y hexitol, tales como, por ejemplo, monooleato de polioxietileno sobitol; y productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, tales como, por ejemplo, monooleato de polietileno

sorbitán. Una suspensión acuosa también puede contener al menos un conservante, tal como, por ejemplo, p-hidroxibenzoato de etilo y n-propilo; al menos un agente colorante; al menos un agente saborizante; y/o al menos un agente edulcorante, que incluye, pero no se limita a, sacarosa, sacarina y aspartamo.

- 5 Las suspensiones oleosas se pueden preparar, por ejemplo, suspendiendo al menos un compuesto de la Fórmula (I) y/o al menos una de sal farmacéuticamente aceptable del mismo en un aceite vegetal, tal como, por ejemplo, aceite de cacahuete; aceite de oliva; aceite de sésamo; y aceite de coco; o en aceite mineral, tal como, por ejemplo, parafina líquida. Una suspensión aceitosa también puede contener al menos un agente espesante, tal como, por ejemplo, cera de abeja; parafina dura y alcohol cetílico. Con el fin de proporcionar una suspensión aceitosa agradable al paladar, al menos uno de los agentes edulcorantes ya descritos anteriormente, y/o al menos un agente saborizante se puede agregar a la suspensión aceitosa. Una suspensión oleosa puede contener además al menos un conservante, que incluye, pero no se limita a, un antioxidante, como, por ejemplo, hidroxianisol butilado y alfa-tocoferol.

- Los polvos y gránulos dispersables pueden prepararse, por ejemplo, mezclando al menos un compuesto de la Fórmula (I) y/o al menos una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con al menos un agente dispersante y/o humectante; al menos un agente de suspensión; y/o al menos un conservante. Los agentes dispersantes, humectantes y agentes de suspensión adecuados son como ya se describió anteriormente. Conservantes de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, por ejemplo, antioxidantes, p. ej., ácido ascórbico. Además, polvos y gránulos dispersables también pueden contener al menos un excipiente, que incluye, pero no se limita a, agentes edulcorantes, por ejemplo; agentes aromatizantes; y agentes colorantes.

- 25 Una emulsión de al menos un compuesto de la Fórmula (I) y/o al menos una de sus sales farmacéuticamente aceptables puede, por ejemplo, prepararse como una emulsión de aceite en agua. La fase oleosa de las emulsiones que comprenden compuestos de la Fórmula (I) puede estar constituida por ingredientes conocidos de una manera conocida. La fase oleosa puede ser proporcionada por, pero no se limita a, por ejemplo, un aceite vegetal, tal como, por ejemplo, aceite de oliva y aceite de arachis; un aceite mineral, tal como, por ejemplo, parafina líquida; y mezclas de los mismos. Aunque la fase puede comprender simplemente un emulsionante, puede comprender una mezcla

de al menos un emulsionante con una grasa o un aceite o con una grasa y un aceite. Los agentes emulsionantes adecuados incluyen, pero no se limitan a, por ejemplo, fosfátidos de origen natural, p. ej., lecitina de soja; ésteres o ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, tales como, por ejemplo, monooleato de sorbitán; y

5 productos de condensación de ésteres parciales con óxido de etileno, tales como, por ejemplo, monooleato de polioxietileno sorbitán. Preferiblemente, se incluye un emulsionante hidrófilo junto con un emulsionante lipófilo que actúa como un estabilizante. También se prefiere incluir tanto un aceite como una grasa. Juntos, el(los) emulsionante(s) con o sin estabilizador(es) forman la llamada cera emulsionante, y la

10 cera, junto con el aceite y la grasa, forman la llamada base de ungüento emulsionante que forma la fase oleosa dispersa de las formulaciones en crema. Una emulsión también puede contener un agente edulcorante, un agente saborizante, un conservante y/o un antioxidante. Emulsionantes y estabilizantes de emulsión adecuados para su uso en la formulación de la presente invención incluyen Tween 60, Span 80, alcohol

15 cetoestearílico, alcohol miristílico, monoestearato de glicerilo, laurilsulfato de sodio, diestearato de glicerilo solo o con una cera, u otros materiales bien conocidos en la técnica.

Los compuestos de la Fórmula (I) y/o al menos una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos también pueden administrarse por vía intravenosa, subcutánea

20 y/o intramuscular a través de cualquier forma inyectable farmacéuticamente aceptable y adecuada. Formas inyectables de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, por ejemplo, soluciones acuosas estériles que comprenden vehículos y solventes aceptables, tales como, por ejemplo, agua, solución de Ringer y solución de cloruro de sodio isotónica; microemulsiones estériles de aceite en agua; y suspensiones acuosas u oleaginosas.

25 Las formulaciones para administración precursora pueden estar en la forma de soluciones o suspensiones para inyección estéril isotónica acuosa o no acuosa. Estas soluciones y suspensiones pueden prepararse a partir de polvos o gránulos estériles usando uno o más de los portadores o diluyentes mencionados para su uso en las formulaciones para administración oral o usando otros agentes dispersantes o

30 humectantes adecuados y agentes de suspensión. Los compuestos pueden disolverse en agua, polietilenglicol, propilenglicol, etanol, aceite de maíz, aceite de semilla de algodón, aceite de cacahuete, aceite de sésamo, alcohol bencílico, cloruro de sodio, goma de

tragacanto y/o varios amortiguadores. Otros adyuvantes y modos de administración son bien conocidos en la técnica farmacéutica. El ingrediente activo también puede administrarse por inyección como una composición con portadores adecuados que incluyen solución salina, dextrosa o agua, o con ciclodextrina (es decir, Captisol),
5 solubilización de cosolventes (es decir, propilenglicol) o solubilización micelar (es decir, Tween 80).

La preparación inyectable estéril también puede ser una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente no tóxico parenteralmente aceptable o solvente, por ejemplo, como una solución en 1,3-butanodiol. Entre los portadores y solventes
10 aceptables que pueden emplearse están el agua, solución de Ringer y solución de cloruro sódico isotónica. Además, los aceites fijos estériles se emplean convencionalmente como un medio solvente o de suspensión. Para este propósito cualquier aceite fijo blando puede emplearse incluyendo mono o di-glicéridos sintéticos. Además, los ácidos grasos tales como ácido oleico encuentran uso en la preparación de inyectables.

15 Una microemulsión de aceite en agua inyectable estéril puede prepararse, por ejemplo, 1) disolviendo al menos un compuesto de la Fórmula (I) en una fase oleosa, tal como, por ejemplo, una mezcla de aceite de soja y lecitina; 2) combinando la Fórmula (I) que contiene la fase oleosa con una mezcla de agua y glicerol; y 3) procesando la combinación para formar una microemulsión.

20 Se puede preparar una suspensión acuosa u oleaginosa estéril de acuerdo con métodos ya conocidos en la técnica. Por ejemplo, se puede preparar una solución o suspensión acuosa estéril con un diluyente o solvente parenteralmente aceptable no tóxico, tal como, por ejemplo, diol de 1,3 butano; y se puede preparar una suspensión oleaginosa estéril con un solvente o medio de suspensión aceptable estéril no tóxico, tal
25 como, por ejemplo, aceites fijos estériles, p. ej., mono o diglicéridos sintéticos; y ácidos grasos, tales como, por ejemplo, ácido oleico.

Los portadores farmacéuticamente aceptables se formulan de acuerdo con una serie de factores que están dentro del alcance de los expertos en la técnica. Estos incluyen, sin limitación: el tipo y naturaleza del agente activo que se está formulando; el
30 sujeto al que se va a administrar la composición que contiene el agente; la vía de administración prevista de la composición; y la indicación terapéutica a la que se dirige. Los portadores farmacéuticamente aceptables incluyen medios líquidos tanto acuosos

como no acuosos, así como una variedad de formas de dosificación sólidas y semisólidas. Tales portadores pueden incluir varios ingredientes y aditivos diferentes además del agente activo, dichos ingredientes adicionales se incluyen en la formulación por una variedad de razones, p. ej., la estabilización del agente activo, aglutinantes, etc., bien conocido por los expertos en la técnica. Descripciones de portadores farmacéuticamente aceptables adecuados, y factores involucrados en su selección, se encuentran en una variedad de fuentes fácilmente disponibles tales como, por ejemplo, Allen, LV Jr. *Remington: The Science and Practice of Pharmacy (2 Volumes)*, 22da Edición (2012), Pharmaceutical Press.

Los portadores, adyuvantes y vehículos farmacéuticamente aceptables que se pueden usar en las composiciones farmacéuticas de esta invención incluyen, pero no se limitan a, intercambiadores de iones, alúmina, estearato de aluminio, lecitina, sistemas de administración de fármacos autoemulsionantes (SEDDS) tales como Succinato de d- alfa-tocoferol polietilenglicol 1000, surfactantes utilizados en formas de dosificación farmacéutica como Tweens, aceite de ricino polietoxilado como surfactante CREMOPHORTM (BASF) u otras matrices de administración poliméricas similares, proteínas séricas, tales como albúmina sérica humana, sustancias amortiguadoras tales como fosfatos, glicina, ácido sórbico, sorbato de potasio, mezclas de glicéridos parciales de ácidos grasos vegetales saturados, agua, sales o electrolitos, como sulfato de protamina, fosfato de hidrógeno disódico, hidrogenofosfato de potasio, cloruro de sodio, sales de zinc, sílice coloidal, trisilicato de magnesio, polivinilpirrolidona, sustancias a base de celulosa, polietilenglicol, carboximetilcelulosa sódica, poliacrilatos, ceras, polímeros de bloqueo de polietileno-polioxipropileno, polietilenglicol y grasa de lana. Ciclodextrinas tales como alfa, beta y gamma-ciclodextrina, o derivados modificados químicamente tales como hidroxialquilciclodextrinas, que incluyen 2 y 3-hidroxipropil-ciclodextrinas, u otros derivados solubilizados también pueden usarse ventajosamente para mejorar la administración de compuestos de las fórmulas descritas en el presente documento.

Los compuestos farmacéuticamente activos de esta invención pueden procesarse de acuerdo con métodos convencionales de farmacia para producir agentes medicinales para la administración a pacientes, que incluye seres humanos y otros mamíferos. Las composiciones farmacéuticas pueden someterse a operaciones farmacéuticas

convencionales tales como esterilización y/o pueden contener adyuvantes convencionales, tales como conservantes, estabilizantes, agentes humectantes, emulsionantes, amortiguadores, etc. Las tabletas y píldoras pueden prepararse adicionalmente con recubrimientos entéricos. Dichas composiciones también pueden comprender adyuvantes, 5 tales como agentes humectantes, edulcorantes, aromatizantes y perfumantes.

Para fines terapéuticos, los compuestos activos de esta invención se combinan normalmente con uno o más adyuvantes apropiados para la vía de administración indicada. Si se administran por vía oral, los compuestos se pueden mezclar con lactosa, sacarosa, almidón en polvo, ésteres de celulosa de ácidos alcanoicos, alquilésteres de 10 celulosa, talco, ácido esteárico, estearato de magnesio, óxido de magnesio, sales de sodio y calcio de ácidos fosfóricos y sulfúricos, gelatina. goma de acacia, alginato de sodio, polivinilpirrolidona y/o alcohol de polivinilo, y luego comprimidos o encapsulados para una administración conveniente. Dichas cápsulas o tabletas pueden contener una formulación de liberación controlada que se puede proporcionar en una dispersión de 15 compuesto activo en hidroxipropilmetil celulosa.

Las cantidades de compuestos que se administran y el régimen de dosificación para tratar una condición de enfermedad con los compuestos y/o composiciones de esta invención dependen de una variedad de factores, que incluyen la edad, peso, sexo, condición médica del sujeto, tipo de la enfermedad, gravedad de la enfermedad, ruta y 20 frecuencia de administración, y compuesto particular empleado. Por lo tanto, el régimen de dosificación puede variar ampliamente, pero puede determinarse de forma rutinaria utilizando métodos estándar. Puede ser apropiada una dosis diaria de 0,001 a 100 mg/kg de peso corporal aproximadamente, preferiblemente entre 0,0025 y 50 mg/kg de peso corporal aproximadamente y más preferiblemente entre 0,005 y 10 mg/kg de peso 25 corporal aproximadamente. La dosis diaria se puede administrar en una a cuatro dosis por día. Otros programas de dosificación incluyen una dosis por semana y una dosis por ciclo de dos días.

Las composiciones farmacéuticas de esta invención comprenden al menos un compuesto de la Fórmula (I) y/o al menos una sal farmacéuticamente aceptable del 30 mismo, y opcionalmente un agente adicional seleccionado de cualquier portador, adyuvante y vehículo farmacéuticamente aceptable. Las composiciones alternativas de esta invención comprenden un compuesto de la Fórmula (I) descrita en el presente

documento, o un profármaco del mismo, y un portador, adyuvante o vehículo farmacéuticamente aceptable.

La presente invención también incluye kits farmacéuticos útiles, por ejemplo, en el tratamiento o prevención de enfermedades o trastornos asociados con la proteína Helios y otras enfermedades mencionadas en el presente documento que incluyen uno o más recipientes que contienen una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la Fórmula (I). Tales kits pueden incluir además, si se desea, uno o más de varios componentes de kits farmacéuticos convencionales, tales como, por ejemplo, contenedores con uno o más portadores farmacéuticamente aceptables, contenedores adicionales, como será evidente fácilmente para los expertos en la técnica. Las instrucciones, ya sea como inserciones o como etiquetas, que indican las cantidades que se administrarán de los componentes, las pautas de administración y/o las pautas para mezclar los componentes, también se pueden incluir en el kit.

El régimen de dosificación para los compuestos de la presente invención variará, por supuesto, dependiendo de factores conocidos, tales como las características farmacodinámicas del agente particular y su modo y vía de administración; la especie, edad, sexo, salud, condición médica y peso del receptor; la naturaleza y extensión de los síntomas; el tipo de tratamiento concurrente; la frecuencia del tratamiento; la vía de administración, la función renal y hepática del paciente y el efecto deseado.

A modo de guía general, la dosis oral diaria de cada ingrediente activo, cuando se usa para los efectos indicados, oscilará entre 0,001 y 5000 mg por día aproximadamente, preferiblemente entre 0,01 y 1000 mg por día aproximadamente, y más preferiblemente entre 0,1 a 250 mg aproximadamente por día. Por vía intravenosa, las dosis más preferidas oscilarán entre 0,01 y 10 mg/kg/minuto aproximadamente durante una infusión a velocidad constante. Los compuestos de la Fórmula (I) pueden administrarse en una sola dosis diaria, o la dosificación diaria total puede administrarse en dosis divididas de dos, tres, o cuatro veces al día.

Los compuestos se administran típicamente en mezcla con diluyentes, excipientes o portadores farmacéuticos adecuados (conocidos colectivamente en el presente documento como portadores farmacéuticos) adecuadamente seleccionados con respecto a la forma de administración pretendida, p. ej., tabletas orales, cápsulas, elixires y jarabes, y

consistentes con las prácticas farmacéuticas convencionales.

Las formas de dosificación adecuadas (composiciones farmacéuticas) para la administración pueden contener de 1 miligramo a 200 miligramos aproximadamente de ingrediente activo por unidad de dosificación. En estas composiciones farmacéuticas, el
5 ingrediente activo normalmente estará presente en una cantidad de aproximadamente 0,1-95 % en peso basado en el peso total de la composición.

Una cápsula típica para la administración oral contiene al menos uno de los compuestos de la Fórmula (I) (250 mg), lactosa (75 mg) y estearato de magnesio (15 mg). La mezcla se pasa a través de un tamiz de malla 60 y se empaqueta en una cápsula de
10 gelatina No. 1.

Una preparación inyectable típica se produce colocando asépticamente al menos uno de los compuestos de la presente invención (250 mg) en un vial, liofilizando y sellando de manera aséptica. Para su uso, los contenidos del vial se mezclan con 2 ml de solución salina fisiológica, para producir una preparación inyectable.

15 La presente invención incluye dentro de su alcance composiciones farmacéuticas que comprenden, como ingrediente activo, una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos uno de los compuestos de la Fórmula (I), solo o en combinación con un vehículo farmacéutico. Opcionalmente, los compuestos de la Fórmula (I) pueden usarse solos, en combinación con otros compuestos de la Fórmula (I), o en combinación con uno o más de
20 otros agentes terapéuticos, p. ej., un agente anticancerígeno u otro material farmacéuticamente activo.

Independientemente de la vía de administración seleccionada, los compuestos de la Fórmula (I), que pueden usarse en una forma hidratada adecuada, y/o las composiciones farmacéuticas de la presente invención, se formulan en formas de
25 dosificación farmacéuticamente aceptables por métodos convencionales conocidos por los de expertos en la técnica.

Los niveles de dosificación reales de los ingredientes activos en las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden variarse para obtener una cantidad del ingrediente activo que sea eficaz para lograr la respuesta terapéutica para un paciente,
30 composición y modo de administración específicos, sin ser tóxica para el paciente.

El nivel de dosificación seleccionado dependerá de una variedad de factores que incluyen la actividad del compuesto particular empleado de la Fórmula (I), o el éster, sal

o amida de las mismas, la vía de administración, el tiempo de administración, la tasa de excreción o metabolismo del compuesto particular que se emplea, la tasa y medida de absorción, la duración del tratamiento, otros fármacos, compuestos y/o materiales utilizados en combinación con el compuesto particular empleado, la edad, sexo, peso, condición, salud general e historia médica anterior del paciente tratado, y factores de este tipo conocidos en las técnicas médicas.

Un médico o veterinario que tiene experiencia ordinaria en la técnica puede determinar fácilmente y prescribir la cantidad eficaz de la composición farmacéutica requerida. Por ejemplo, el médico o veterinario puede empezar con dosis de los compuestos de la Fórmula (I) empleadas en la composición farmacéutica a niveles más bajos que los requeridos para conseguir el efecto terapéutico y aumentar gradualmente la dosificación hasta que se logre el efecto.

En general, una dosis diaria adecuada de un compuesto de la Fórmula (I) será la cantidad del compuesto que es la dosis más baja eficaz para producir un efecto terapéutico. Tal dosis eficaz dependerá generalmente de los factores descritos anteriormente. Generalmente, las dosis orales, intravenosas, intracerebroventriculares y subcutáneas de los compuestos de la Fórmula (I) para un paciente variarán de 0,01 a 50 mg por kilogramo de peso corporal por día aproximadamente.

Si se desea, la dosis diaria eficaz del compuesto activo puede administrarse como dos, tres, cuatro, cinco, seis o más subdosis administradas separadamente a intervalos apropiados durante todo el día, opcionalmente, en formas de dosificación unitarias. En ciertos aspectos de la invención, la dosificación es una administración por día.

Si bien es posible administrar un compuesto de la Fórmula (I) solo, es preferible administrar el compuesto como una formulación (composición) farmacéutica.

Los otros agentes terapéuticos anteriores, cuando se emplean en combinación con los compuestos de la Fórmula (I), se pueden usar, por ejemplo, en las cantidades indicadas en la Guía de Referencia Médica (PDR, Physicians 'Desk Reference) o según lo determine un experto en la técnica. En los métodos de la presente invención, tales otros agentes terapéuticos pueden administrarse antes, simultáneamente o después de la administración de los compuestos de la invención.

MÉTODOS DE PREPARACIÓN

Los compuestos de la presente invención se pueden preparar de varias maneras bien conocidas por un experto en la técnica de la síntesis orgánica. Los compuestos de la presente invención pueden sintetizarse utilizando los métodos descritos a continuación, junto con métodos sintéticos conocidos en la técnica de la química orgánica sintética, o variaciones de los mismos como apreciarán los expertos en la técnica. Los métodos preferidos incluyen, pero no se limitan a, los descritos a continuación. Todas las referencias citadas en el presente documento se incorporan aquí como referencia en su totalidad.

Los compuestos de esta invención pueden prepararse mediante el uso de las reacciones y técnicas descritas en esta sección. Las reacciones se realizan en solventes apropiados para los reactivos y materiales empleados y son adecuados para las transformaciones que se efectúan. Además, en la descripción de los métodos sintéticos descritos a continuación, se debe entender que todas las condiciones de reacción propuestas, incluida la elección del solvente, la atmósfera de reacción, temperatura de reacción, duración del experimento y procedimientos de elaboración, se eligen como condiciones estándar para esa reacción, que deberá ser fácilmente reconocida por un experto en la técnica. Un experto en la técnica de la síntesis orgánica entiende que la funcionalidad presente en varias porciones de la molécula debe ser compatible con los reactivos y reacciones propuestas. Dichas restricciones a los sustituyentes, que son compatibles con las condiciones de reacción, se reconocerán fácilmente por un experto en la técnica y se deberán utilizar métodos alternativos. Esto a veces requerirá un juicio para modificar el orden de las etapas sintéticas o para seleccionar un esquema de proceso particular sobre otro con el fin de obtener un compuesto de la invención. También se reconocerá que otra consideración importante en la planificación de cualquier ruta sintética en este campo es la elección juiciosa del grupo protector usado para la protección de los grupos funcionales reactivos presentes en los compuestos descritos en esta invención. Una cuenta autorizada que describe las diferentes alternativas al médico capacitado es Greene y Wuts (Protective Groups In Organic Synthesis, cuarta edición, Wiley y Sons, 207).

Los compuestos de la Fórmula (I) se pueden preparar como referencia a los métodos ilustrados en los siguientes Esquemas. Como se muestra allí, el producto final es

un compuesto que tiene la misma fórmula estructural que la Fórmula (I). Se entenderá que cualquier compuesto de la Fórmula (I) puede producirse mediante los esquemas mediante la selección adecuada de reactivos con sustitución apropiada. Los solventes, temperaturas, presiones y otras condiciones de reacción pueden ser seleccionados

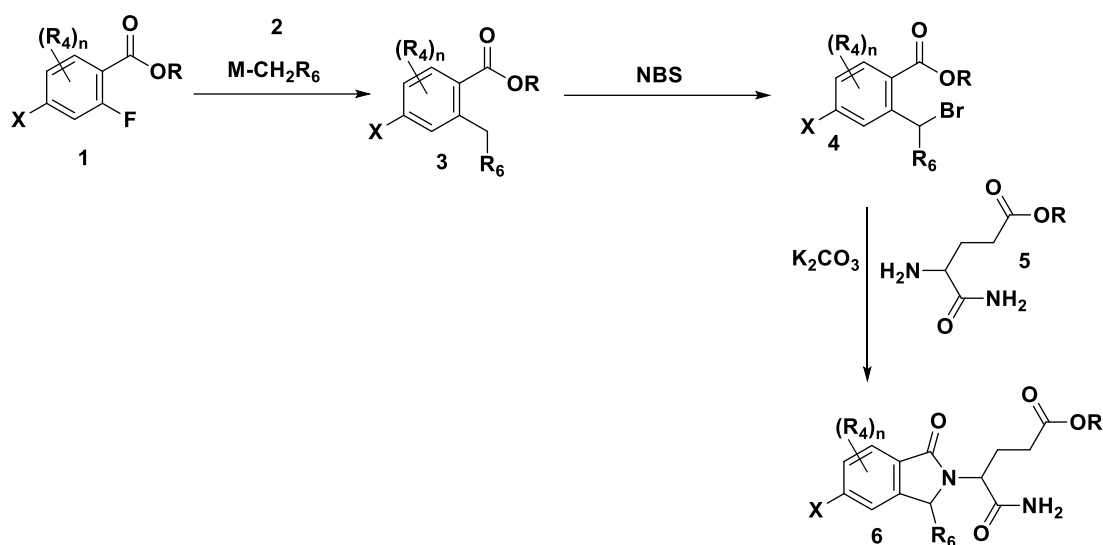
5 fácilmente por un experto en la técnica. Los materiales de partida están disponibles comercialmente o se preparan fácilmente por un experto en la técnica. Los constituyentes de los compuestos son como se definen en este documento o en otra parte de la especificación.

Las rutas generales a los compuestos descritos en la invención se ilustran en los
10 Esquemas 1-2, donde R₁, R₂, R₄ y R₆ se definen previamente en el texto o en un grupo funcional que se puede convertir en el sustituyente final deseado. El sustituyente X es un grupo saliente tal como un haluro (preferiblemente I, Br o Cl) o un triflato. El sustituyente M es un par de acoplamiento adecuado, tal como ácido borónico, éster borónico o estannano. El sustituyente R es un grupo protector de ácido carboxílico tal como terc-
15 butilo, metilo, etilo o bencilo. Como se muestra en el Esquema 1, un procedimiento general para la preparación de compuestos de la invención implica comenzar con un fluoruro de arilo adecuadamente sustituido. Cuando se trata con un nucleófilo adecuado, tal como el intermedio 2 donde M puede ser MgBr o Li, se pueden producir haluros de arilo sustituidos tal como 3. La halogenación, preferiblemente la bromación, se puede
20 lograr tratando 3 con reactivos tal como N-bromosuccinimida, para producir el bromuro 4. El tratamiento de 4 con una amina 5 en condiciones básicas como carbonato de potasio dará como resultado el desplazamiento inicial del bromuro secundario seguido de la ciclación para producir la lactama 6.

25

30

ESQUEMA 1



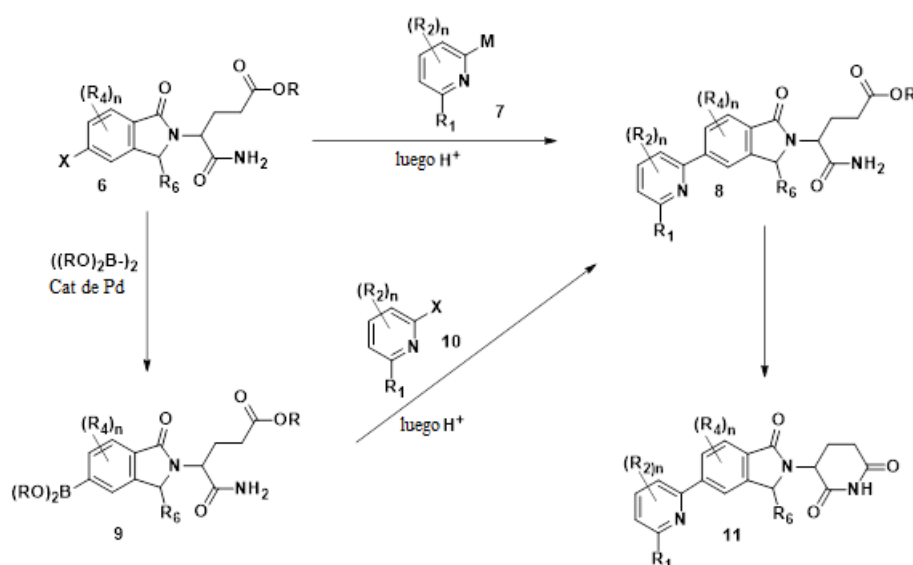
Cuando M es un estannano, 6 se puede unir con un heterociclo 7 adecuadamente sustituido en una reacción de acoplamiento de Stille utilizando un sistema de catalizador adecuado (p. ej., $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ o bis(trifenilfosfina)dicloropaladio(II)/CuI) para proporcionar 8. Alternativamente, 6 se puede convertir en el ácido borónico o éster borónico 9 mediante condiciones bien conocidas por los expertos en la técnica. El ácido borónico o éster de boronato, 9 se puede unir con un heterociclo adecuadamente sustituido 10 en una reacción de acoplamiento de Suzuki-Miyaura utilizando un catalizador de paladio adecuado (p. ej., $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ o 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio(II)) en presencia de una base adecuada (por ejemplo, carbonato de cesio, fosfato de potasio o bicarbonato de sodio) para dar 8.

Dependiendo de la selección específica del grupo protector de ácido R en el intermedio 4, se pueden requerir diferentes condiciones para convertirlo en el compuesto 11 (Esquema 2). Por ejemplo, cuando R = metilo, etilo o bencilo, puede preferirse la ciclación inducida por una base de 8 para la conversión directa de 8 a 11 usando una base adecuada (p. ej., LiHMDS) en un solvente adecuado (p. ej., tetrahidrofurano). Cuando R = *terc*-butilo, puede preferirse la ciclación inducida por ácido de 12 para la conversión directa de 8 a 11 usando un ácido adecuado (p. ej., ácido bencenosulfónico) en un solvente adecuado (p. ej., acetonitrilo). En algunos casos, puede ser preferible usar un procedimiento de dos pasos, primero al liberar ácido carboxílico libre correspondiente a 8 usando condiciones que sean apropiadas para el grupo protector de ácido específico R. Tales métodos son bien conocidos por un experto en la técnica de síntesis orgánica. Por

ejemplo, cuando R = terc-butilo, se puede preferir la hidrólisis ácida usando un ácido adecuado (p. ej., ácido trifluoroacético o ácido clorhídrico). Cuando R = metilo, etilo o bencilo, puede preferirse la hidrólisis básica usando una base adecuada (p. ej., LiOH). En otros casos, donde R = bencilo, puede ser ventajoso desprotegerlo mediante la acción de hidrogenólisis catalizada por paladio. Una vez liberado, el ácido carboxílico puede activarse hacia el ataque intramolecular por la amida primaria pendiente mediante la acción de cloruro de tionilo/dimetilformamida o carbonildiimidazol/dimetilaminopiridina para producir el **11**.

10

ESQUEMA 2



EJEMPLOS

Los siguientes ejemplos ilustran las modalidades particulares de la presente invención y no limitan el alcance de la presente invención. Las abreviaturas y símbolos químicos, así como las abreviaturas y los símbolos científicos, tienen sus significados usuales y habituales, a menos que se especifique lo contrario. A continuación se definen abreviaturas adicionales empleadas en los Ejemplos y en otras partes de esta aplicación. Los intermediarios comunes son generalmente útiles para la preparación de más de un ejemplo. Los compuestos de los Ejemplos se identifican mediante el ejemplo y el paso en el que se prepararon (p. ej., “1-A” denota el Ejemplo 1, paso A), o mediante el ejemplo solo cuando el compuesto es el compuesto del título del ejemplo (por ejemplo, “1” denota el compuesto del título del Ejemplo 1). En algunos casos se describen preparaciones

alternativas de intermedios o ejemplos. Con frecuencia, los químicos expertos en la técnica de la síntesis pueden idear preparaciones alternativas que pueden ser deseables en función de una o más consideraciones, tales como un tiempo de reacción más corto, materiales de partida menos costosos, facilidad de operación o aislamiento, rendimiento mejorado, susceptibles a catálisis, evitación de reactivos tóxicos, accesibilidad de instrumentación especializada y disminución del número de pasos lineales, etc. La intención de describir preparaciones alternativas es permitir aún más la preparación de los ejemplos de esta invención. En algunos casos, algunos grupos funcionales en los ejemplos y reivindicaciones esbozados pueden reemplazarse por reemplazos bioisostéricos bien conocidos en la técnica, por ejemplo, reemplazo de un grupo ácido carboxílico con una fracción de tetrazol o fosfato.

ABREVIATURAS

	ACN	acetonitrilo
15	AIBN	2,2-azobisisobutironitrilo
	n-BuLi	n-butil-litio
	DCE	dicloroetano
	DCM	diclorometano
	DIPEA	<i>N,N</i> -diisopropiletilamina
20	DMF	dimetilformamida
	DMSO	sulfóxido de dimetilo
	dppf	bis(difenilfosfino)ferroceno
	EtOH	etanol
	EtOAc	acetato de etilo
25	Hex	hexanos
	H-Glu(OtBu)-NH ₂ HCl	(4S)-4,5-diamino-5-oxopentanoato hidrocloreuro de terc-butilo
	HPLC	Cromatografía líquida de alto rendimiento
	Base de Hunig	<i>N,N</i> -diisopropiletilamina
30	LiHMDS	bis(trimetilsilil)amida de litio
	MeCN	acetonitrilo
	min	minuto(s)

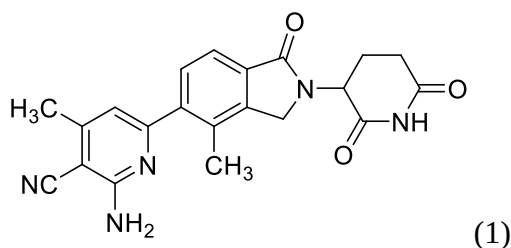
	ml	mililitro(s)
	NBS	n-bromosuccinimida
	Pd(dppf) ₂ Cl ₂	[1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio(II)
	Pd(dtbpf)Cl ₂	[1,1'-bis(di- <i>terc</i> -butilfosfino)ferroceno]dicloropaladio(II)
5	Pd(PPh ₃) ₄	<i>tetrakis</i> (trifenilfosfina)paladio
	PhSO ₃ H	ácido bencenosulfónico
	PTSOH	ácido para-toluenosulfónico
	TEA	triethylamina
	THF	tetrahidrofurano
10	XPhos Pd G2	cloro(2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-triisopropil-1,1'-bifenilo)[2-(2'-amino-1,1'-bifenilo)]paladio(II)

Método HPLC Preparativa 1: XBridge C18, 200 mm x 19 mm, partículas de 5 µm; Fase móvil A: 5:95 acetonitrilo: agua con 10 mM de acetato de amonio; Fase móvil B: 95:5 acetonitrilo: agua con 10 mM de acetato de amonio; Gradiente: se mantuvo 0 min al 15 % B, 15-50 % B durante 25 minutos, luego se mantuvo 6 minutos a 100 % B; Tasa de flujo: 20 ml/min; Temperatura de columna: 25 °C. La recolección de fracciones fue provocada por señales de MS.

20

EJEMPLO 1

2-amino-6-(2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-4-metil-1-oxoisoindolin-5-il)-4-metilnicotinonitrilo



Preparación 1A: (S)-5-amino-4-(5-bromo-4-metil-1-oxoisoindolin-2-il)-5-oxopentanoato de *terc*-butilo.

25

A una suspensión de clorhidrato de (S)-4,5-diamino-5-oxopentanoato de *terc*-butilo (2,162 g, 6,06 mmol) en acetonitrilo (30 ml) a 0 °C se añadió DIPEA (3,018 ml, 17,28 mmol). Después de agitar durante 20 min, la mezcla de reacción se trató con una

solución de 4-bromo-2-(bromometil)-3-metilbenzoato de metilo (2,650 g, 8,22 mmol) en MeCN (10 ml). La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 5 min. Se retiró el baño de hielo y la mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla de reacción se calentó a 60 °C y se mantuvo a esa temperatura durante la noche. La mezcla de reacción se concentró, se disolvió en EtOAc, se lavó con agua dos veces, luego con 1,5 M de K₂HPO₄ y también con salmuera y luego se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró. El material se purificó utilizando gel de sílice y eluyendo con EtOAc al 30-100 %/Hex. El material resultante se trituró con 8 ml de éter para obtener un rendimiento del 33,7 % del producto del título. ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ 7,70 (d, J=8,1 Hz, 1H), 7,56 (d, J=8,1 Hz, 1H), 6,23 (br s, 1H), 5,31 (br s, 1H), 4,92 (dd, J=8,6, 6,4 Hz, 1H), 4,55-4,47 (m, 1H), 4,45-4,36 (m, 1H), 2,41 (s, 3H), 2,41-2,14 (m, 4H), 1,45 (s, 9H).

Preparación 1B: (S)-5-amino-4-(4-metil-1-oxo-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il) isoindolin-2-il)-5-oxopentanoato de *terc*-butilo.

Se cargó un matraz seco con (S)-5-amino-4-(5-bromo-4-metil-1-oxoisoindolin-2-il)-5-oxopentanoato de *terc*-butilo (300 mg, 0,730 mmol), 4, 4,4',4',5,5,5',5'-octametil-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolano) (278 mg, 1,094 mmol) y acetato de potasio (214 mg, 2,188 mmol) y se lavó con nitrógeno. Los sólidos se suspendieron en dioxano (10 ml) y se desgasificaron con una corriente de nitrógeno durante 5 min con agitación. La mezcla de reacción se trató con Pd(dppf)Cl₂ (16,02 mg, 21,88 μmol). El matraz se desgasificó durante 5 min, se selló y se calentó a 60 °C durante 18 horas bajo nitrógeno. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc, se lavó con salmuera y se secó sobre MgSO₄. Se concentró y purificó en una columna de gel de sílice de 40 g por ISCO, eluyendo con 0-40B/DCM % (donde B = 15 %EtOH/EtOAc + 0,1 %TEA), para proporcionar el producto con un rendimiento del 99 %. MS (ES): m/z = 459,3 [M+H]⁺.

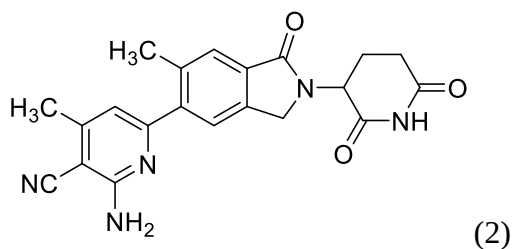
Ejemplo 1:

Se cargó un vial de microondas de 2 ml con 2-amino-6-bromo-4-metilnicotinonitrilo (12 mg, 0,057 mmol), (S)-5-amino-4-(4-metil-1-oxo-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)isoindolin-2-il)-5-oxopentanoato de *terc*-butilo (28,5 mg, 0,062 mmol), Pd(dtbpf)Cl₂ (1,106 mg, 1,698 μmol), dioxano (1,5 ml) y K₃PO₄

acuoso (0,075 ml, 0,226 mmol). Se selló el vial y se reemplazó el aire con nitrógeno. La mezcla de reacción se sometió a microondas durante 15 min a 120 °C. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc, se lavó con salmuera y la capa orgánica se separó y concentró. El residuo obtenido se disolvió en 1 ml de solución de PhSO₃H en MeCN (1,44 g/40 ml) y se calentó en microondas durante 10 min a 120 °C. El material se concentró a sequedad y el residuo se disolvió en 1,9 ml de DMSO y se purificó mediante el método 1 de HPLC preparativa para proporcionar el compuesto del título con un rendimiento del 49 %. MS (ES): m/z = 390,3 [M+H]⁺. ¹H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 11,03 (s, 1 H) 7,66 (d, *J*=7,63 Hz, 1 H) 7,53 (d, *J*=7,93 Hz, 1 H) 6,91 (s, 2 H) 6,78 (s, 1 H) 5,18 (br dd, *J*=13,43, 5,19 Hz, 1 H) 4,52 (br d, *J*=17,09 Hz, 1 H) 4,35 (br d, *J*=17,40 Hz, 1 H) 2,91-3,01 (m, 1 H) 2,65 (br d, *J*=16,78 Hz, 1 H) 2,47 (br dd, *J*=13,12, 4,27 Hz, 1 H) 2,43 (s, 3 H) 2,33 (s, 3 H) 2,03-2,10 (m, 1 H).

EJEMPLO 2

2-amino-6-(2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-6-metil-1-oxoisindolin-5-il)-4-metilnicotinonitrilo



Preparación 2A: 4-bromo-2-(bromometil)-5-metilbenzoato de metilo.

A una solución de ácido 4-bromo-2,5-dimetilbenzoico (5,0 g, 21,82 mmol) a temperatura ambiente se añadió SOCl₂ (31,66 ml, 436 mmol) y se agitó durante 2 horas. Se usó LCMS para confirmar la formación del cloruro de ácido y luego se concentró a sequedad. Se añadió metanol (30 ml) a temperatura ambiente y se agitó durante 0,5 horas luego se concentró hasta sequedad nuevamente. Al éster metílico obtenido se añadió CCl₄ (180 ml), seguido de 1-bromopirrolidina-2,5-diona (4,08 g, 22,92 mmol) y luego AIBN (0,108 g, 0,654 mmol). La mezcla resultante se calentó a 80 °C con agitación durante la noche. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla se concentró, se disolvió en EtOAc, se lavó con salmuera y se secó sobre MgSO₄. LCMS mostró dos picos principales. La mezcla de regioisómeros obtenida (5,4 g) se utilizó para el siguiente paso.

Preparación 2B: (S)-5-amino-4-(5-bromo-6-metil-1-oxoisoindolin-2-il)-5-oxopentanoato de *terc*-butilo.

A una suspensión de 4-bromo-2-(bromometil)-5-metilbenzoato de metilo (5,4 g, 16,76 mmol) en acetonitrilo (100 ml) se añadió (S)-4,5-diamino-5-oxopentanoato de *terc*-butilo, HCl (4,00 g, 16,76 mmol), seguido de base de Hunig (5,84 ml, 33,52 mmol).

Después de agitar durante 1 hora a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se colocó en un baño a 40 °C y se agitó a esa temperatura durante 6 días. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó con EtOAc, se lavó con salmuera, se secó sobre

MgSO₄, se filtró y se concentró. El residuo se purificó por ISCO [columna de 120 g], eluyendo con EtOAc/DCM de 0-100 % para obtener 2,80 g del compuesto deseado.

Además, otros dos productos secundarios (metil(S)-5-(((1-amino-5-(*terc*-butoxi)-1,5-dioxopentan-2-il)amino)metil)-4-bromo-2 -metilbenzoato y (S)-5-amino-4-(((2-((R)-1-amino-5-(*terc*-butoxi)-1,5-dioxopentan-2-il)-6 -bromo-3-oxoisoindolin-5-il)metil)amino)-

5-oxopentanoato de *terc*-butilo). MS (ES): m/z = 411,0 [M+H]⁺. ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 7,70 (d, J=6,44 Hz, 2 H) 6,31 (br s, 1 H) 5,36 (br s, 1 H) 4,90 (dd, J=8,68, 6,34 Hz, 1 H) 4,51 (d, J=16,98 Hz, 1 H) 4,41 (d, J=16,98 Hz, 1 H) 2,51 (s, 3 H) 2,21-2,43 (m, 3 H) 2,12-2,19 (m, 1 H) 1,44 (s, 9 H).

Preparación 2C: (S)-5-amino-4-(6-metil-1-oxo-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il) isoindolin-2-il)-5-oxopentanoato de *terc*-butilo.

Se cargó un vial a presión de 40 ml con (S)-5-amino-4-(5-bromo-6-metil-1-oxoisoindolin-2-il)-5-oxopentanoato de *terc*-butilo (600 mg, 1,458 mmol),

4,4,4',4',5,5,5',5'-octametil-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolano) (556 mg, 2,188 mmol) y acetato

de potasio (430 mg, 4,376 mmol) y se lavó con nitrógeno. Los sólidos se suspendieron en dioxano (20 ml) y se desgasificaron con una corriente de nitrógeno durante 5 min con

agitación. La mezcla de reacción se trató con Pd(dppf)Cl₂ (32,02 mg, 0,044 mmol) y se desgasificó durante 5 min. el vial se selló y se calentó a 95 °C durante 3 horas bajo

nitrógeno. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con EtOAc,

se lavó con salmuera y se secó sobre MgSO₄. El filtrado se concentró y se purificó en una columna de gel de sílice de 40 g por ISCO, eluyendo con (0 %-40 %B/DCM, donde B = 15 % EtOH /EtOAc + 0,1 % TEA) para proporcionar el compuesto del título con un

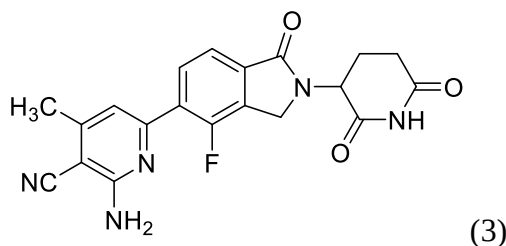
rendimiento del 95 %. MS (ES): $m/z = 459,3 [M+H]^+$.

Ejemplo 2:

Se cargó un vial de microondas de 2 ml con 2-amino-6-bromo-4-metilnicotinonitrilo (12 mg, 0,057 mmol), (S)-5-amino-4-(6-metil-1-oxo-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)isoindolin-2-il)-5-oxopentanoato de terc-butilo (28,5 mg, 0,062 mmol), Pd(dtbpf)Cl₂ (1,106 mg, 1,698 μ mol), dioxano (1,5 ml) y K₃PO₄ acuoso (0,075 ml, 0,226 mmol). Se selló el vial y se reemplazó el aire con nitrógeno. La mezcla de reacción se sometió a microondas durante 15 min a 120 °C. Después de enfriar a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc, se lavó con salmuera y la capa orgánica se separó y se concentró. El residuo obtenido se disolvió en 1 ml de solución de PhSO₃H en MeCN (1,44 g/40 ml) y se calentó en microondas durante 10 min a 120 °C. La mezcla se concentró a sequedad y el residuo se disolvió en 1,7 ml de DMSO y se purificó mediante el método 1 de HPLC preparativa para proporcionar el compuesto del título con un rendimiento del 35 %. MS (ES): $m/z = 390,3 [M+H]^+$. ¹H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 10,97-11,02 (m, 1 H) 7,65 (s, 1 H) 7,55 (s, 1 H) 6,76 (s, 1 H) 5,13 (dd, *J*=13,31, 5,18 Hz, 1 H) 4,39-4,51 (m, 1 H) 4,28-4,39 (m, 1 H) 2,87-2,98 (m, 1 H) 2,58-2,65 (m, 1 H) 2,51 (d, *J*=1,74 Hz, 3 H) 2,42-2,46 (m, 1 H) 2,41 (br s, 3 H) 2,39-2,40 (m, 1 H) 1,99-2,06 (m, 1 H).

EJEMPLO 3

2-amino-6-(2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-4-fluoro-1-oxoisoindolin-5-il)-4-metilnicotinonitrilo



Intermedio 3A; 5-bromo-4-fluoro-3-hidroxiisobenzofuran-1(3H)-ona

A una solución agitada de 2,2,6,6-tetrametilpiperidina (7,07 ml, 41,6 mmol) en THF (150 ml) se añadió una solución 2,5 M de *n*-BuLi en hexanos (16 ml, 40,0 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó durante 30 min a 0 °C. A esto, se añadió por goteo

una solución de ácido 4-bromo-3-fluorobenzoico (3,5 g, 15,98 mmol) en THF anhidro (100 ml) a -50 °C. La mezcla de reacción se agitó durante 3 horas a la misma temperatura. Se añadió DMF anhidro (2,48 ml, 32,0 mmol) a -50 °C y se dejó que la mezcla de reacción alcanzara la temperatura ambiente y se agitó durante 16 horas. La reacción se inactivó con HCl 1,5 N (100 ml). La mezcla de reacción se extrajo con acetato de etilo (3 x 30 ml). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se evaporó bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (SiO₂, columna de 120 g, 0-50 % EtOAc/éter de petróleo) para proporcionar 5-bromo-4-fluoro-3-hidroxiisobenzofuran-1(3H)-ona (1,0 g, 23 % rendimiento) como un sólido de color amarillo. LCMS (Método A): tiempo de retención 0,48 min, [M+H]⁺ 245,1, 247,1; ¹H RMN (400 MHz, acetonitrilo-d₃) δ 7,93 (dd, J = 8,0, 5,5 Hz, 1H), 7,59 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 6,74 (br s, 1H), 5,94 (br s, 1H).

Intermedio 3B: (S)-5-amino-4-(5-bromo-4-fluoro-1-oxoisindolin-2-il)-5-oxopentanoato de terc-butilo

A una solución agitada de 5-bromo-4-fluoro-3-hidroxiisobenzofuran-1(3H)-ona (1,7 g, 6,88 mmol) y (S)-4,5-diamino-5-oxopentanoato de *terc*-butilo HCl (1,67 g, 8,26 mmol) en DMF (30 ml) se añadió triacetoxiborohidruro de sodio (3,65 g, 17,21 mmol) a 0 °C. Se dejó que la mezcla de reacción alcanzara la temperatura ambiente y se agitó durante 48 horas. La mezcla de reacción se diluyó con agua helada (50 ml) y el sólido blanco resultante se filtró y se secó bajo presión reducida para proporcionar (S)-5-amino-4-(5-bromo-4-fluoro-1-oxoisindolin-2-il)-5-oxopentanoato de *terc*-butilo (1,6 g, 50 % de rendimiento) como un sólido de color blanco. LCMS (Método A): tiempo de retención 1,39 min, [M+H]⁺ 413,9, 415,3; ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,85 (dd, J = 8,0, 6,0 Hz, 1H), 7,59 (br s, 1H), 7,51 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,23 (br s, 1H), 4,77-4,59 (m, 3H), 2,26-2,13 (m, 3H), 2,08-1,96 (m, 1H), 1,34 (s, 9H).

Intermedio 3C: (S)-5-amino-4-(5-(6-amino-5-ciano-4-metilpiridin-2-il)-4-fluoro-1-oxoisindolin-2-il)-5-oxopentanoato de *terc*-butilo

Una solución agitada de 2-amino-6-cloro-4-metilnicotinonitrilo (50 mg, 0,30 mmol) y hexametilditina (0,093 ml, 0,45 mmol) en tolueno (2 ml) se purgó con argón durante cinco minutos seguido de la adición de [1,1'-bis(di-*terc*-

butilfosfino)ferroceno]dicloropaladio(II) (9,72 mg, 0,015 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 2 horas 100 °C, se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida para proporcionar el producto crudo. $[M+H]^+$ 298,2. A una solución del producto crudo en dioxano (2 ml), se añadió (S)-5-amino-4-(5-bromo-4-fluoro-1-oxoisindolin-2-il)-5-oxopentanoato de terc-butilo. (98 mg, 0,24 milimoles). La mezcla de reacción se purgó con argón durante cinco minutos, se añadió cloruro de bis(trifenilfosfina)paladio(II) (16,60 mg, 0,024 mmol) y la mezcla de reacción se calentó a 100 °C durante 16 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se filtró y el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el producto crudo que se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO₂, columna de 80 g, 0-100 % B (B = 15 % EtOH en EtOAc, 0,5 % TEA)/cloroformo) para proporcionar (S)-5-amino-4-(5-(6-amino-5-ciano-4-metilpiridin-2-il)-4-fluoro-1-oxoisindolina -2-il)-5-oxopentanoato de terc-butilo (60 mg, 40,7 % de rendimiento). LCMS (Método A): tiempo de retención 1,35 min, $[M+H]^+$ 468,3.

Ejemplo 3:

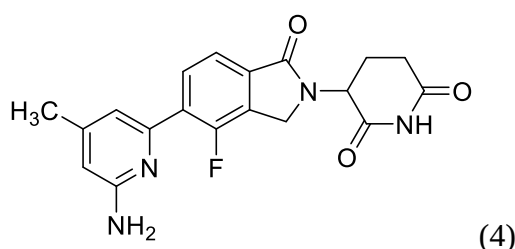
A una solución agitada del Intermedio 3C (60 mg, 0,13 mmol) en ácido acético (2 ml), se añadió ácido bencenosulfónico (20,30 mg, 0,13 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 150 °C bajo irradiación de microondas durante 10 minutos. Los volátiles se eliminaron bajo presión reducida y el producto crudo resultante se purificó mediante LC-MS preparativa (columna: Waters XBridge C18, 19 x 150 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: Ácido trifluoroacético al 0,1 % en agua; fase móvil B: acetonitrilo; degradado: 10-40 % B durante 20 minutos, luego una retención de 5 minutos al 100 % B; flujo: 15 ml/min). Las fracciones deseadas se liofilizaron a sequedad para proporcionar el 2-amino-6-(2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-4-fluoro-1-oxoisindolin-5-il)-4-metilnicotinonitrilo (15 mg, 29 % de rendimiento). LCMS (Método G): tiempo de retención 1,62 min, $[M+H]^+$ 394,2; ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 11,01 (br s, 1H), 8,01 (t, J=7,3 Hz, 1H), 7,70 (d, J=7,9 Hz, 1H), 7,06 (d, J=1,5 Hz, 1H), 6,99 (s, 2H), 5,14 (dd, J=13,3, 5,1 Hz, 1H), 4,74-4,38 (m, 2H), 3,05-2,85 (m, 1H), 2,75-2,57 (m, 2H), 2,46 (s, 3H), 2,13-1,95 (m, 1H).

Procedimiento general 2: Una solución agitada del Intermedio 3B (1 eq.) y reactivo de aril estannano (1 eq.) en dioxano (5 ml/mmol) se purgó con argón durante

cinco minutos. Se añadió cloruro de bis(trifenilfosfina)paladio(II) (0,1 eq.) y la mezcla de reacción se calentó a 100 °C durante 16 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se filtró a través de una capa de celite y el filtrado se concentró bajo presión reducida. El material crudo se transfirió a un vial de microondas, se
 5 añadieron PhSO₃H (2 eq.) y ácido acético (5 ml/mmol) y la mezcla se calentó a 150 °C durante 10 min en un reactor de microondas. La mezcla se concentró y el residuo se purificó por HPLC preparativa.

EJEMPLO 4

10 3-(5-(6-amino-4-metilpiridin-2-il)-4-fluoro-1-oxoisindolin-2-il)piperidina-2,6-diona



Intermedio 4A; 4-metil-6-(trimetilestannil)piridin-2-amina

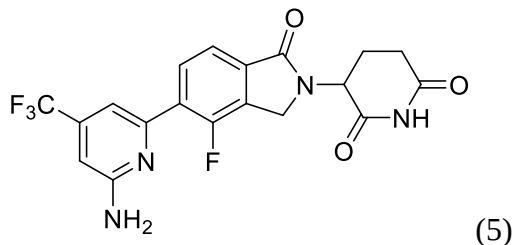
Una solución agitada de 6-bromo-4-metilpiridin-2-amina (75 mg, 0,382 mmol) y hexametilditina (0,119 ml, 0,57 mmol) en tolueno (5 ml) se purgó con argón durante
 15 cinco minutos seguido de la adición de [1,1'-bis(di-terc-butilfosfino)ferroceno]dicloropaladio(II) (12,4 mg, 0,02 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 2 horas 100 °C, se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida para proporcionar 4-metil-6-(trimetilestannil)piridin-2-amina (130 mg, 89 % de rendimiento). LCMS (Método A): tiempo de retención 1,62 min,
 20 [M+H]⁺ 273,1.

Ejemplo 4:

El acoplamiento de Stille y la ciclación se realizaron siguiendo el procedimiento general 2 con la Preparación 4A y la Preparación 3B. MS (ES): m/z = [M+H]⁺ 369,1; ¹H
 25 RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 11,02 (s, 1H), 8,02 (t, J = 7,2 Hz, 1H), 7,65 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 6,84 (s, 1H), 6,34 (s, 1H), 6,03 (s, 2H), 5,15 (dd, J = 5,0, 13,3 Hz, 1H), 4,66-4,57 (m, 1H), 4,49-4,38 (m, 1H), 3,02-2,85 (m, 1H), 2,62 (br d, J = 17,4 Hz, 1H), 2,49-2,40 (m, 1H), 2,22 (s, 3H), 2,07-1,98 (m, 1H).

EJEMPLO 5

3-(5-(6-amino-4-(trifluoroetil) piridin-2-il)-4-fluoro-1-oxoisoindolin-2-il) piperidin-2,6-diona



Intermedio 5A;

Una solución agitada de 6-cloro-4-(trifluorometil)piridin-2-amina (75 mg, 0,382 mmol) y hexametilditina (0,119 ml, 0,57 mmol) en tolueno (5 ml) se purgó con argón durante cinco minutos seguido de la adición de [1,1'-bis(di-terc-

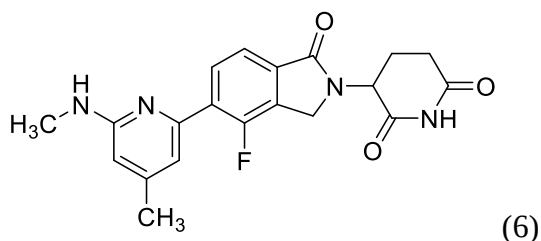
10 butilfosfino)ferroceno]dicloropaladio(II) (12,4 mg, 0,02 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 2 horas 100 °C, se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida para proporcionar 4-(trifluorometil)-6-(trimetilestannil)piridin-2-amina (130 mg, 89 % de rendimiento). LCMS (Método A): tiempo de retención 1,92 min, [M+H]⁺ 327,1.

Ejemplo 5:

El acoplamiento de Stille y la ciclación se realizaron siguiendo el procedimiento general 1 con el Intermedio 5A y el Intermedio 3B. MS (ES): m/z = [M+H]⁺ 423,3; ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 11,02 (s, 1H), 8,05 (t, J = 7,3 Hz, 1H), 7,69 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 7,15 (s, 1H), 6,78 (d, J = 11,8 Hz, 3H), 5,15 (dd, J = 5,0, 13,3 Hz, 1H), 4,68-4,57 (m, 1H), 4,52-4,39 (m, 1H), 2,99-2,82 (m, 1H), 2,67-2,58 (m, 1H), 2,48-2,39 (m, 1H), 2,12-1,93 (m, 1H).

EJEMPLO 6

3-(4-fluoro-5-(4-metil-6-(metilamino)piridin-2-il)-1-oxoisoindolin-2-il) piperidin-2,6-diona



Intermedio 6A; N,4-dimetil-6-(trimetilestannil)piridin-2-amina

Una solución agitada de 6-cloro-N,4-dimetilpiridin-2-amina (100 mg, 0,64 mmol) y hexametilditina (0,199 ml, 0,96 mmol) en tolueno (10 ml) se purgó con argón durante cinco minutos seguido de la adición de [1,1'-bis(di-terc-butilfosfino)ferroceno]dicloropaladio(II) (20,8 mg, 0,032 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 2 horas 100 °C, se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar N,4-dimetil-6-(trimetilestannil)piridin-2-amina (250 mg, 55,0 % de rendimiento). LCMS (Método A): tiempo de retención 1,29 min, [M+H]⁺ 287,1.

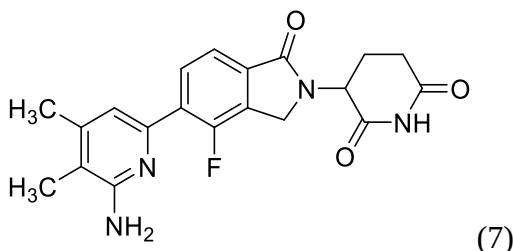
Ejemplo 6:

El acoplamiento de Stille y la ciclación se realizaron siguiendo el procedimiento general 2 con el Intermedio 6A y el Intermedio 3B. MS (ES): m/z = [M+H]⁺ 383,1; ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 11,03 (s, 1H), 8,02 (s, 1H), 7,72 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 6,93 (s, 1H), 6,58 (br s, 1H), 5,16 (dd, J = 13,1, 5,0 Hz, 1H), 4,82-4,40 (m, 3H), 2,89 (s, 3H), 2,75-2,63 (m, 1H), 2,64-2,57 (m, 1H), 2,46-2,41 (m, 1H), 2,36-2,28 (m, 3H), 2,06-2,00 (m, 1H). 19/19

20

EJEMPLO 7

3-(5-(6-amino-4,5-dimetilpiridin-2-il)-4-fluoro-1-oxoisindolin-2-il)piperidina-2,6-diona



Intermedio 7A; 3,4-dimetil-6-(trimetilestannil)piridin-2-amina

Una solución agitada de 6-cloro-3,4-dimetilpiridin-2-amina (75 mg, 0,48 mmol) y hexametilditina (0,149 ml, 0,72 mmol) en tolueno (3 ml) se purgó con argón durante

cinco minutos seguido de la adición de [1,1'-bis(di-terc-butilfosfino)ferroceno]dicloropaladio(II) (15,6 mg, 0,024 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 2 horas 100 °C, se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida para proporcionar 3,4-dimetil-6-(trimetilestannil)piridin-2-amina (150 mg, 55,0 % de rendimiento). LCMS (Método A): tiempo de retención 1,16 min, [M+H]⁺ 287,2.

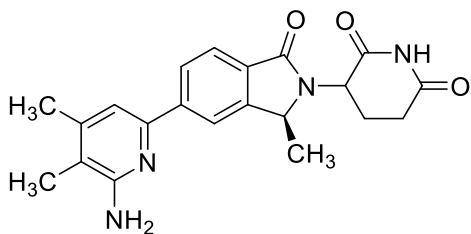
Ejemplo 7:

El acoplamiento de Stille y la ciclación se realizaron siguiendo el procedimiento general 1 con el Intermedio 7A y el Intermedio 3B. MS (ES): m/z = [M+H]⁺ 383,0; ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 11,01 (br s, 1H), 8,05 (t, J = 7,3 Hz, 1H), 7,65 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 6,93 (d, J = 1,5 Hz, 1H), 5,81 (s, 2H), 5,14 (dd, J = 13,3, 5,1 Hz, 1H), 4,71-4,34 (m, 2H), 3,01-2,88 (m, 1H), 2,67-2,58 (m, 2H), 2,46-2,41 (m, 1H), 2,23 (s, 3H), 2,04 (s, 3H).

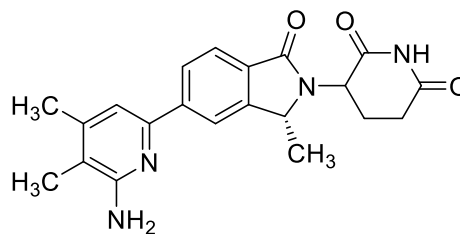
15

EJEMPLOS 8 Y 9

3-((S)-5-(6-amino-4,5-dimetilpiridin-2-il)-3-metil-1-oxoisoindolin-2-il)piperidina-2,6-diona y 3-((R)-5-(6-amino-4,5-dimetilpiridin-2-il)-3-metil-1-oxoisoindolin-2-il)piperidina-2,6-diona



(8)



(9)

Intermedio 8A: Ácido 4-bromo-2-etilbenzoico

A una solución de ácido 4-bromo-2-fluorobenzoico (5 g, 22,83 mmol) en THF anhidro (100 ml) se añadió una solución 1 M de bromuro de etilmagnesio en THF (22,83 ml, 68,5 mmol) a -78 °C en 15 minutos. La mezcla de reacción se calentó lentamente a temperatura ambiente y se agitó en atmósfera de nitrógeno durante 12 horas. La mezcla de reacción se enfrió a 0 °C. La reacción se inactivó con la adición por goteo de MeOH (15 ml). La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida. El residuo resultante se particionó entre EtOAc y HCl acuoso 2 M. Las capas se separaron y la capa acuosa se

25

extrajo dos veces con EtOAc. La capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró bajo presión reducida para proporcionar el producto crudo. El producto crudo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (SiO₂, columna de 80 g, 0-30 % EtOAc/éter de petróleo) para proporcionar ácido 4-bromo-2-etilbenzoico (4 g, 76 % de rendimiento). LCMS (Método D): tiempo de retención 2,49 min, [M+H]⁺ 228,8, 230,0; ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 13,04 (br s, 1H), 7,71 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 7,55 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H), 7,49 (dd, *J* = 8,0, 2,0 Hz, 1H), 2,92 (q, *J* = 7,2 Hz, 2H), 1,15 (t, *J* = 7,5 Hz, 3H).

10 Intermedio 8B: 4-bromo-2-etilbenzoato de metilo

A una mezcla agitada de ácido 4-bromo-2-etilbenzoico (4,0 g, 17,46 mmol) y Cs₂CO₃ (11,38 g, 34,9 mmol) en DMF (40 ml) se añadió yoduro de metilo (2,18 ml, 34,9 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 14 horas, se filtró a través de una capa de celite y se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (SiO₂, columna de 80 g, 0-50 % EtOAc/Pet-éter) para proporcionar 4-bromo-2-etilbenzoato de metilo (3,3 g, 78 % de rendimiento) como un aceite incoloro. ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ 7,76 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 7,46 (d, *J* = 1,5 Hz, 1H), 7,40 (dd, *J* = 8,5, 2,0 Hz, 1H), 3,91 (s, 3H), 2,99 (q, *J* = 7,5 Hz, 2H), 1,26 (t, *J* = 7,5 Hz, 3H).

20

Intermedio 8C: 4-bromo-2-(1-bromoetil)benzoato de metilo

A una solución agitada de 4-bromo-2-etilbenzoato de metilo (3,0 g, 12,34 mmol) en benceno (40 ml) se añadió NBS (3,29 g, 18,51 mmol) seguido de AIBN (0,405 g, 2,47 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 85 °C durante 15 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con EtOAc, se lavó con solución saturada de tiosulfato de sodio al 10 % y solución de salmuera. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (SiO₂, columna de 40 g, 0-30 % EtOAc/éter de petróleo) para proporcionar 4-bromo-2-(1-bromoetil)benzoato de metilo (2,1 g, 53 % de rendimiento) como un sólido de color blanco. ¹H RMN (400 MHz, cloroformo-d) δ 7,96 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H), 7,73 (s, 1H), 7,49 (dd, *J* = 8,5, 2,0 Hz, 1H), 6,28 (q, *J* = 7,0 Hz, 1H), 3,95 (s, 3H).

30

Intermedio 8D: (4S)-5-amino-4-(5-bromo-3-metil-1-oxoisindolin-2-il)-5-oxopentanoato de *terc*-butilo

A una solución agitada de 4-bromo-2-(1-bromoetilo) benzoato de metilo (1,0 g, 3,11 mmol) y H-Glu(OtBu)-NH₂ HCl (0,754 g, 3,73 mmol) en acetonitrilo (30 ml) se añadió DIPEA (2,71 ml, 15,53 mmol). La mezcla de reacción resultante se calentó a 85 °C durante 15 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (SiO₂, columna de 40 g, 0-10 % MeOH/DCM) para proporcionar (4S)-5-amino-4-(5-bromo-3-metil-1-oxoisindolin- 2-il)-5-oxopentanoato de *terc*-butilo (650 mg, 51 % de rendimiento) como un semisólido. LCMS (Método A): tiempo de retención 1,45 min, [M+H]⁺ 411,3, 413,3.

Intermedio 8E: 5-amino-4-(5-(6-amino-4,5-dimetilpiridin-2-il)-3-metil-1-oxoisindolin-2-il)-5-oxopentanoato de *terc*-butilo

Una solución agitada de 6-cloro-3,4-dimetilpiridin-2-amina (200 mg, 1,28 mmol) y hexametilditina (544 mg, 1,66 mmol) en tolueno (6 ml) se purgó con argón durante cinco minutos seguido de la adición de [1,1'-bis(di-*terc*-butilfosfino)ferroceno]dicloropaladio(II) (83 mg, 0,13 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 2 horas 100 °C, se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida para proporcionar el producto crudo. [M+H]⁺ 287,0. A una solución de este producto crudo en dioxano (4 ml), se añadió 5-amino-4-(5-bromo-3-metil-1-oxoisindolin-2-il)-5-oxopentanoato de *terc*-butilo (0,289 g, 0,70 milimoles). La mezcla de reacción se purgó con argón durante cinco minutos. Se añadió bis(1,2-bis(difenilfosfino)etano)paladio(0) (0,063 g, 0,07 mmol) y la mezcla de reacción se calentó a 100 °C durante 16 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se filtró y el filtrado se concentró abajo presión reducida para proporcionar el producto crudo que se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO₂, columna de 80 g, 0-100 % B (B = 15 % EtOH en EtOAc + 0,5 % TEA)/cloroformo) para proporcionar 5-amino-4-(5-(6-amino-4,5-dimetilpiridin-2-il)-3-metil-1-oxoisindolin-2-il)- 5-oxopentanoato de *terc*-butilo (110 mg, 34,6 % de rendimiento). LCMS (Método A): tiempo de retención 1,40 min, [M+H]⁺ 453,3.

Intermedio 8F: 3-(5-(6-amino-4,5-dimetilpiridin-2-il)-3-metil-1-oxoisoindolin-2-il)piperidina-2,6-diona

A una solución agitada de 5-amino-4-(5-(6-amino-4,5-dimetilpiridin-2-il)-3-metil-1-oxoisoindolin-2-il)-5-oxopentanoato de terc-butilo (110 mg, 0,243 mmol, 34,6 % de rendimiento) en acetonitrilo (5 ml), se añadió ácido p-toluenosulfónico (84 mg, 0,442 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 120 °C bajo irradiación de microondas durante 30 minutos. Los volátiles se eliminaron bajo presión reducida y el producto crudo se purificó mediante HPLC preparativa (Columna: Hypersil gold c18 (19 X 250 mm), 5 µm Fase móvil A- 10 mM de acetato de amonio en agua, Fase móvil B: FLUJO DE ACN: 20 ml T/B %:0/20, 18/80, 19/100, 21/100, 22/20, 24/20). Las fracciones deseadas se liofilizaron a sequedad para proporcionar la 3-(5-(6-amino-4,5-dimetilpiridin-2-il)-3-metil-1-oxoisoindolin-2-il) piperidin-2,6-diona . LCMS (Método D): tiempo de retención 2,15 min, [M+H]⁺ 379,0.

15

Ejemplos 8 y 9:

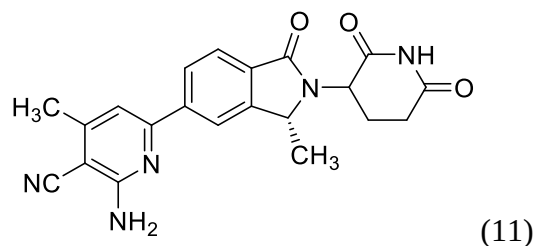
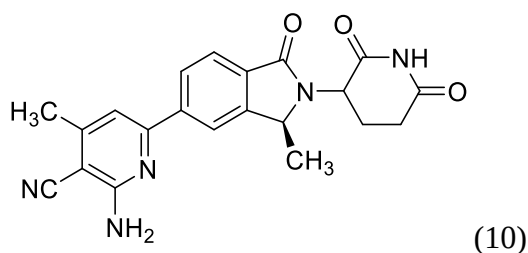
3-(5-(6-amino-4,5-dimetilpiridin-2-il)-3-metil-1-oxoisoindolin-2-il) piperidin-2,6-diona (100 mg) se sometió a separación SFC, (Columna Welk-01(R,R)(250*4,6) mm, 5 µm; % CO₂: 45 %; % cosolvente: 5 mM de acetato amónico en metanol y acetonitrilo (1:1); flujo: 4 g/min; temperatura: 30 °C; UV: 237 nm), las fracciones del primer pico eluidas con un tiempo de retención de 2,64 min se concentraron y liofilizaron para producir 3-((S)-5-(6-amino-4,5-dimetilpiridin-2-il)-3-metil-1 -oxoisoindolin-2-il) piperidin-2,6-diona (12 mg, 15 % de rendimiento). LCMS (Método D): tiempo de retención 2,112 min, [M+H]⁺ 379,0; ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 11,10-10,71 (s, 1H), 8,19 (s, 1H), 8,12 (d, J=7,9 Hz, 1H), 7,69 (d, J=8,0 Hz, 1H), 7,14 (s, 1H), 5,73 (s, 2H), 4,93-4,67 (m, 2H), 2,85-2,71 (m, 2H), 2,25 (s, 3H), 2,04 (s, 3H), 1,51 (d, J=6,6 Hz, 3H) y las fracciones del segundo pico eluidas con un tiempo de retención de 4,03 min se concentraron para liofilizarse y proporcionar 3-((R)-5-(6-amino-4,5-dimetilpiridin-2-il)-3-metil-1-oxoisoindolin- 2-il)piperidina-2,6-diona (8 mg, 10 % de rendimiento). LCMS (Método D): tiempo de retención 2,162 min, [M+H]⁺ 379,0; ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 11,00-10,89 (s, 1H), 8,18 (s, 1H), 8,13 (d, J=8,0 Hz, 1H), 7,70 (d, J=8,0 Hz, 1H), 7,13 (s, 1H), 5,73 (s, 2H), 4,84-4,68 (m, 2H), 2,91-2,65 (m, 3H), 2,25 (s, 3H), 2,04 (s,

30

3H), 1,51-1,46 (m, 3H).

EJEMPLOS 10 Y 11

2-amino-6-((3S)-2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-3-metil-1-oxoisindolin-5-il)-4-metilnicotinonitrilo y 2-amino-6-((3R)-2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-3-metil-1-oxoisindolin-5-il)-4-metilnicotinonitrilo



Intermedios 10A y 11A:

Una solución agitada de 2-amino-6-cloro-4-metilnicotinonitrilo (300 mg, 1,790 mmol) y 1,1,1,2,2,2-hexametildistanano (762 mg, 2,327 mmol) en tolueno (10 ml) se purgó con argón durante cinco minutos seguido de la adición de [1,1'-bis(di-*tert*-butilfosfino)ferroceno]dicloropaladio(II) (117 mg, 0,179 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 2 horas 100 °C, se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida para proporcionar el producto crudo. [M+H]⁺ 298,0 El material crudo se disolvió en dioxano, se añadió el Intermedio 8D (0,695 g, 1,689 mmol). La mezcla de reacción se purgó con argón durante cinco minutos y se añadió bis(difenilfosfino)etano)paladio(0) (0,153 g, 0,169 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 100 °C y se agitó durante 16 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se filtró y el filtrado se concentró bajo presión reducida para proporcionar el producto crudo que se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO₂, columna de 80 g, 0-100 % B (B = 15 % EtOH en EtOAc, 0,5 % TEA)/cloroformo) para proporcionar 5-amino-4-(5-(6-amino-5-ciano-4-metilpiridin-2-il)-3-metil-1-oxoisindolin-2-il)-5-oxopentanoato de *tert*-butilo (200 mg, 0,431 mmol, 25,5 % de rendimiento). LCMS (Método A): tiempo de retención 1,47 min, [M+H]⁺ 464,3.

Ejemplos 10 y 11:

A una solución agitada de 5-amino-4-(5-(6-amino-5-ciano-4-metilpiridin-2-il)-3-metil-1-oxoisindolin-2-il)-5- Se añadió oxopentanoato de *tert*-butilo (200 mg, 0,431

mmol) en acetonitrilo (10 ml), ácido p-toluenosulfónico (164 mg, 0,863 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 120 °C con radiación de microondas durante 30 minutos. Los volátiles se eliminaron bajo presión reducida y el producto crudo resultante se purificó mediante HPLC preparativa (Columna: Hypersil gold c18 (19 X 250 mm), 5 µm

5 Fase móvil A- 10 mM de acetato de amonio en agua; Fase móvil B: Flujo de ACN: 20 ml T/B %: 0/20,18/80, 19/100, 21/100, 22/20, 24/20). Las fracciones deseadas se liofilizaron a sequedad para proporcionar el 2-amino-6-(2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-3-metil-1-oxoisindolin-5-il)-4-metilnicotinonitrilo LCMS (Método D): tiempo de retención 1,66 min, [M+H]⁺ 390,2 como mezcla de diastereoisómeros. Los diastereoisómeros fueron

10 separados por SFC (Columna Welk-01(R,R)(250*4,6) mm, 5 µm; %CO₂: 45 %; % cosolvente: 5 mM de acetato amónico en metanol y acetonitrilo (1:1); flujo: 4 g/min; temperatura: 30 °C; UV: 237 nm), las primeras fracciones de isómeros que eluyeron con un tiempo de retención de 2,28 min se concentraron hasta sequedad y se liofilizaron para producir 2-amino-6-((3S)-2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-3-metil-1-oxoisindolin-5-il)-4-

15 metilnicotinonitrilo (20 mg, 12 % de rendimiento). LCMS (Método D): tiempo de retención 1,64 min, [M+H]⁺ 390,0; ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 11,01-10,72 (s, 1H), 8,28 (s, 1H), 8,19 (dd, J=8,0, 1,3 Hz, 1H), 7,76 (d, J=8,0 Hz, 1H), 7,35 (s, 1H), 6,92 (s, 2H), 4,94-4,68 (m, 2H), 2,65-2,58 (m, 2H), 2,44 (s, 3H), 2,14-1,91 (m, 2H), 1,51 (d, J=6,6 Hz, 3H); y las fracciones del segundo isómero que eluyeron con un tiempo de

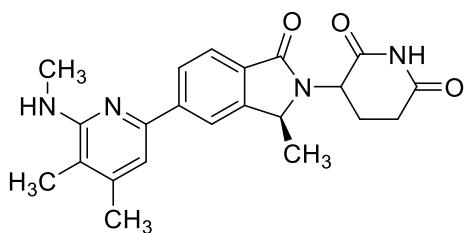
20 retención de 3,25 min se concentraron a sequedad y se liofilizaron para producir 2-amino-6-((3R)-2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-3-metil-1-oxoisindolin-5-il)-4-metilnicotinonitrilo (20 mg, 12 % de rendimiento). LCMS (Método D): tiempo de retención 1,66 min, [M+H]⁺ 390,0; ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 11,01-10,72 (s, 1H), 8,27 (s, 1H), 8,20 (d, J=8,0 Hz, 1H), 7,78 (d, J=8,0 Hz, 1H), 7,34 (s, 1H), 6,90 (s, 2H), 4,84-4,70 (m, 2H), 2,84-2,67

25 (m, 2H), 2,44 (s, 3H), 2,14-1,91 (m, 2H), 1,49 (br d, J=6,6 Hz, 3H).

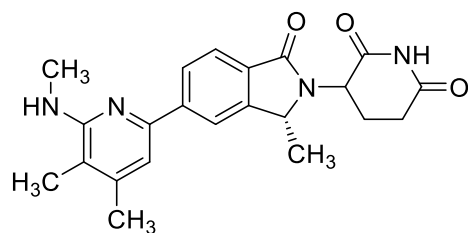
EJEMPLOS 12 Y 13

3-((S)-5-(4,5-dimetil-6-(metilamino)piridin-2-il)-3-metil-1-oxoisindolin-2-il) piperidin-2,6-diona y 3-((R)-5-(4,5-dimetil-6-(metilamino)piridin-2-il)-3-metil-1-oxoisindolin-2-il)piperidina-2,6-diona

30



(12)



(13)

Intermedios 12A y 13A:

A una solución del Intermedio 8D (350 mg, 0,764 mmol) en dioxano (8 ml) se añadió 6-cloro-N,3,4-trimetilpiridin-2-amina (130 mg, 0,764 mmol) seguido de fosfato de potasio acuoso 3 M, solución dibásica (0,764 ml, 2,291 mmol). La mezcla de reacción se purgó con nitrógeno durante 15 min a temperatura ambiente. Se añadió aducto de PdCl₂(dppf)-CH₂Cl₂ (62,4 mg, 0,076 mmol) bajo nitrógeno y la mezcla de reacción se calentó a 100 °C durante 12 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se filtró a través de una capa de celite y se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (SiO₂, columna de 24 g, 0-10 % MeOH/DCM) para producir (4S)-5-amino-4-(5-(4,5-dimetil-6-(metilamino)piridin-2-il)-3-metil-1-oxoisindolin-2-il)-5-oxopentanoato de *terc*-butilo (230 mg, 0,493 mmol, 64,6 % de rendimiento) como un sólido de color blancuzco. LCMS (método A): tiempo de retención 1,81 min, [M+H]⁺ 467,4.

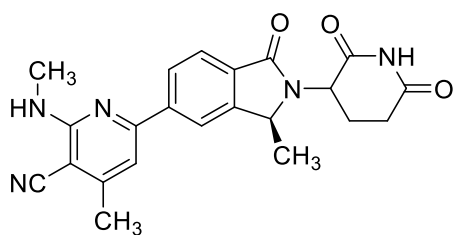
Ejemplos 12 y 13:

A una solución agitada de 5-amino-4-(5-(4,5-dimetil-6-(metilamino)piridin-2-il)-3-metil-1-oxoisindolin-2-il)-5-oxopentanoato de *terc*-butilo (200 mg, 0,429 mmol) en ácido acético (1 ml), se añadió ácido bencenosulfónico (67,8 mg, 0,429 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 120 °C con radiación de microondas durante 30 minutos. Los volátiles se eliminaron bajo presión reducida y el producto crudo resultante se purificó mediante HPLC preparativa (Columna: X Select CSH C18 (250*20 mm) 5 µm Fase móvil: A: 10 mM de Acetato de amonio B: CAN T/B: 0/20, 18/85, 20/100, 21/20, 23/20 Flujo: 20 ml/min). Las fracciones deseadas se liofilizaron a sequedad para proporcionar 3-(5-(4,5-dimetil-6-(metilamino)piridin-2-il)-3-metil-1-oxoisindolin-2-il)piperidina-2,6-diona LCMS (Método A): tiempo de retención 1,47 min, [M+H]⁺ 393,4 como una mezcla de diastereoisómeros. Los diastereoisómeros se separaron por SFC (Columna Chiralpak IC (250*4,6) mm, 5 µm; % CO₂: 45 %; % cosolvente: 5 mM de acetato

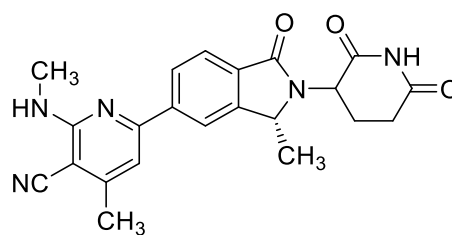
amónico en metanol y acetonitrilo (1:1); flujo: 4 g/min; temperatura: 30 °C; UV: 237 nm), las primeras fracciones de isómeros que eluyeron con un tiempo de retención de 8,65 min se concentraron hasta sequedad y se liofilizaron para producir 3-((S)-5-(4,5-dimetil-6-(metilamino)piridin-2-il)-3-metil-1-oxoisoindolin-2-il)piperidina-2,6-diona (3 mg, 2 % de rendimiento), LCMS (Método D): tiempo de retención 1,743 min, $[M+H]^+$ 393,4; 1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11,07-10,81 (m, 1H), 8,35-8,12 (m, 2H), 7,71 (d, $J=8,0$ Hz, 1H), 7,14 (s, 1H), 6,03 (br d, $J=4,0$ Hz, 1H), 4,88-4,69 (m, 2H), 2,96 (d, $J=4,5$ Hz, 3H), 2,78-2,63 (m, 3H), 2,26 (s, 3H), 2,03 (s, 4H), 1,49 (d, $J=6,5$ Hz, 3H) y las fracciones del segundo pico eluidas a un tiempo de retención de 11,18 min se concentraron para liofilizarse para proporcionar 3-((R)-5-(4,5-dimetil-6-(metilamino)piridin-2-il)-3-metil-1-oxoisoindolin-2-il)piperidina-2,6-diona (3 mg, 2 % de rendimiento) LCMS (Método D): tiempo de retención 1,669 min, $[M+H]^+$ 393,4; 1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11,07-10,81 (m, 1H), 8,35-8,12 (m, 2H), 7,71 (d, $J=8,0$ Hz, 1H), 7,14 (s, 1H), 6,03 (br d, $J=4,0$ Hz, 1H), 4,88-4,69 (m, 2H), 2,96 (d, $J=4,5$ Hz, 3H), 2,78-2,63 (m, 3H), 2,26 (s, 3H), 2,03 (s, 4H), 1,49 (d, $J=6,5$ Hz, 3H).

EJEMPLOS 14 Y 15

6-((3S)-2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-3-metil-1-oxoisoindolin-5-il)-4-metil-2-(metilamino)nicotinonitrilo y 6-((3R)-2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-3-metil-1-oxoisoindolin-5-il)-4-metil-2-(metilamino)nicotinonitrilo



(14)



(15)

Intermedios 14A y 15A:

A una solución del Intermedio 8D (200 mg, 0,436 mmol) en dioxano (8 ml) se añadió 6-cloro-4-metil-2-(metilamino)nicotinonitrilo (79 mg, 0,436 mmol), seguido de K_3PO_4 (0,291 ml, 0,873 mmol solución acuosa 3 M). La mezcla de reacción se purgó con nitrógeno durante 15 min a temperatura ambiente. Se añadió Xphos Pd G4 (37,6 mg, 0,044 mmol) en atmósfera de nitrógeno y la mezcla de reacción se calentó a 80 °C durante 12 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se filtró a

través de una capa de celite y se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (SiO₂, columna de 24 g, 0-10 % MeOH/DCM) para producir (4S)-5-amino-4-(5-(5-ciano-4-metil-6-(metilamino)piridin-2-il)-3-metil-1-oxoisoindolin-2-il)-5-oxopentanoato de *terc*-butilo (75 mg, 0,157 mmol, 36,0 % de
 5 rendimiento) como un sólido de color blancuzco. LCMS (método A): tiempo de retención 1,59 min, [M+H]⁺ 478,2.

Ejemplos 14 y 15:

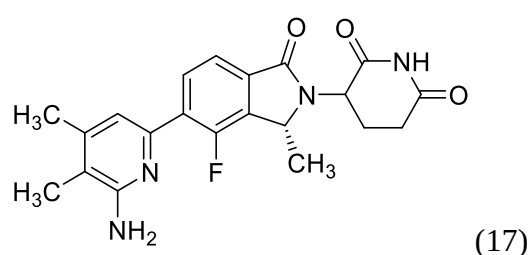
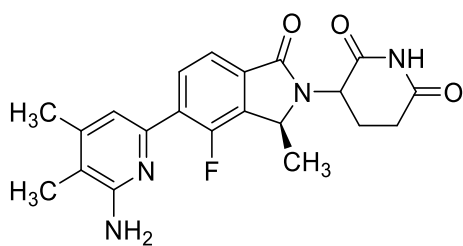
A una solución de (4S)-5-amino-4-(5-(5-ciano-4-metil-6-(metilamino)piridin-2-il)-3-metil-1-oxoisoindolin-2-il)-5-oxopentanoato de *terc*-butilo (60 mg, 0,126 mmol) en
 10 acetronitrilo (3 ml) se añadió ácido bencenosulfónico (19,87 mg, 0,126 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó a 120 °C durante 45 min en un reactor de microondas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se concentró a presión reducida para obtener el producto crudo. El producto crudo se
 15 purificó mediante cromatografía ultrarrápida (SiO₂, columna de 24 g, 0-10 % MeOH/DCM) para producir 6-(2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-3-metil-1-oxoisoindolin-5-il)-4-metil-2-(metilamino)nicotinonitrilo como un sólido de color blancuzco como una mezcla de diastereoisómeros. LCMS (método A): tiempo de retención 1,22 min, [M+H]⁺ 404,1. Los diastereoisómeros fueron separados por SFC (Columna Welk-
 20 01(R,R)(250*4,6) mm, 5 µm; % CO₂: 45 %; % cosolvente: 5 mM de acetato de amonio en metanol y acetronitrilo (1:1); flujo: 4 g/min; temperatura: 30 °C; UV: 237 nm), las primeras fracciones de isómeros que eluyeron con un tiempo de retención de 2,91 min se concentraron hasta sequedad y se liofilizaron para producir 6-((3S)-2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-3-metil-1-oxoisoindolin-5-il)-4-metil-2-(metilamino) nicotinonitrilo (6 mg, 12 % de
 25 rendimiento), LCMS (Método D): tiempo de retención 2,071 min, [M+H]⁺ 404,2; ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 11,27-10,74 (m, 1H), 8,35 (s, 1H), 8,28 (d, J=8,0 Hz, 1H), 7,77 (d, J=8,5 Hz, 1H), 7,37 (s, 1H), 7,12 (br d, J=4,5 Hz, 1H), 4,87 (q, J=6,2 Hz, 1H), 4,81-4,71 (m, 1H), 3,00 (d, J=4,5 Hz, 3H), 2,68 (s, 1H), 2,44 (s, 3H), 1,72 (s, 3H), 1,52 (d, J=7,0 Hz, 3H) y las fracciones del segundo pico eluidas a un tiempo de retención de
 30 4,74 min se concentraron hasta liofilizarse para producir 6-((3R)-2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-3-metil-1-oxoisoindolin-5-il)-4-metil-2-(metilamino)nicotinonitrilo (8 mg, 16 % de rendimiento). LCMS (Método D): tiempo de retención 2,063 min, [M+H]⁺ 404,2; ¹H

RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11,08-10,87 (m, 1H), 8,34 (s, 1H), 8,28 (d, $J=8,3$ Hz, 1H), 7,77 (d, $J=8,0$ Hz, 1H), 7,36 (s, 1H), 7,19-7,05 (m, 1H), 4,91-4,71 (m, 2H), 2,99 (d, $J=4,5$ Hz, 3H), 2,76-2,57 (m, 3H), 2,44 (s, 3H), 1,71 (s, 1H), 1,49 (d, $J=6,8$ Hz, 3H).

5

EJEMPLOS 16 Y 17

3-((S)-5-(6-amino-4,5-dimetilpiridin-2-il)-4-fluoro-3-metil-1-oxoisindolin-2-il)piperidin-2,6-diona y 3-((R)-5-(6-amino-4,5-dimetilpiridin-2-il)-4-fluoro-3-metil-1-oxoisindolin-2-il)piperidina-2,6-diona



10 Intermedio 16A; Ácido 4-bromo-2-etil-3-fluorobenzoico

Una solución de ácido 4-bromo 2,3-difluorobenzoico (2,0 g, 8,44 mmol) en tetrahydrofurano (40 ml) se enfrió a -78°C y se añadió por goteo una solución 1 M de bromuro de etilmagnesio en THF (8,44 ml, 25,3 mmol). Se dejó que la mezcla de reacción alcanzara la temperatura ambiente y se agitó en atmósfera de nitrógeno durante 12 horas. La reacción se inactivó mediante la adición de MeOH (15 ml) por goteo a 0°C . Los volátiles se eliminaron bajo presión reducida y el residuo se repartió entre EtOAc y HCl acuoso 2 M. Las capas se separaron y se extrajeron con EtOAc. La capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró bajo presión reducida para proporcionar el producto crudo. El producto crudo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (SiO_2 , columna de 40 g, 0-80 % EtOAc/Pet-éter) para proporcionar ácido 4-bromo-2-etil-3-fluorobenzoico (1 g, 48 % de rendimiento). LCMS (Método A): tiempo de retención 0,69 min, $[\text{M}-\text{H}]^+$ 245,1, 247,1; ^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) δ 13,36 (s, 1H), 7,68-7,53 (m, 2H), 2,95 (qd, $J = 7,4, 2,6$ Hz, 2H), 1,24-1,06 (m, 3H).

25

Intermedio 16B: 4-bromo-2-etil-3-fluorobenzoato de metilo

A una mezcla agitada de ácido 4-bromo-2-etil-3-fluorobenzoico (0,7 g, 2,83 mmol) y K_2CO_3 (0,783 g, 5,67 mmol) en acetona (15 ml) se añadió sulfato de dimetilo

(0,541 ml, 5,67 mmol) por goteo a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a 50 °C durante 14 horas y se filtró a través de una capa de celite. El filtrado se concentró al vacío y se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (SiO₂, columna de 24 g, 0-50 % EtOAc/Pet-éter) para producir 4-bromo-2-etil-3-fluorobenzoato de metilo (0,51 g, 69 %
 5 de rendimiento). como un aceite incoloro. ¹H RMN (300 MHz, CLOROFORMO-d) δ 7,58-7,51 (m, 1H), 7,49-7,37 (m, 1H), 3,90 (s, 3H), 3,01 (qd, J = 7,4, 2,6 Hz, 2H), 1,23 (t, J = 7,4 Hz, 3H).

Intermedio 16C: 4-bromo-2-(1-bromoetil)-3-fluorobenzoato de metilo

10 A una solución agitada de 4-bromo-2-etil-3-fluorobenzoato de metilo (0,515 g, 1,972 mmol) en DCE (10 ml) se añadió NBS (0,386 g, 2,170 mmol) seguido de AIBN (0,065 g, 0,394 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 85 °C durante 15 horas. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo, se lavó con solución saturada de tiosulfato de sodio al 10 % y solución de salmuera. La capa orgánica se secó sobre sulfato
 15 de sodio anhidro, se filtró y se concentró al vacío. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (SiO₂, columna de 24 g, 0-30 % EtOAc/Pet-éter) para producir 4-bromo-2-(1-bromoetil)-3-fluorobenzoato de metilo (0,6 g, 89 % de rendimiento)) como un sólido de color blanco. ¹H RMN (300 MHz, CLOROFORMO-d) δ 7,70-7,53 (m, 1H), 7,52-7,44 (m, 1H), 6,16-5,87 (m, 1H), 3,93 (s, 3H), 1,95 (dd, J = 7,0,
 20 1,3 Hz, 3H).

Intermedio 16D: (4S)-5-amino-4-(5-bromo-4-fluoro-3-metil-1-oxoisindolin-2-il)-5-oxopentanoato de *terc*-butilo

A una solución agitada de 4-bromo-2-(1-bromoetil)-3-fluorobenzoato de metilo
 25 (0,86 g, 2,53 mmol) y H-Glu(OtBu)-NH₂ HCl (0,845 g, 3,54 mmol) en acetonitrilo (15 ml) se añadió DIPEA (1,325 ml, 7,59 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 85 °C durante 15 horas. Los volátiles se eliminaron BAJO presión reducida y se purificaron mediante cromatografía ultrarrápida (SiO₂, columna de 40 g, 0-10 % MeOH/DCM) para producir (4S)-5-amino-4-(5-bromo-4-fluoro- 3-metil-1-oxoisindolin-2-il)-5-
 30 oxopentanoato DE *terc*-butilo (0,23 g. 21 % de rendimiento) como un sólido de color amarillo pálido. LCMS (Método A): tiempo de retención 1,19 min, [M+23H]⁺ 451,3, 453,4.

Intermedio 16E: (4S)-5-amino-4-(5-(6-amino-4,5-dimetilpiridin-2-il)-4-fluoro-3-metil-1-oxoisoindolin-2-il)-5-oxopentanoato de *terc*-butilo

A una solución agitada de (4S)-5-amino-4-(5-bromo-4-fluoro-3-metil-1-oxoisoindolin-2-il)-5-oxopentanoato de *terc*-butilo (350 mg, 0,815 mmol) en 1,4-dioxano (20 ml), se añadió 3,4-dimetil-6-(trimetilestannil)piridin-2-amina (232 mg, 0,815 mmol). La mezcla se purgó con argón durante cinco minutos y se añadió cloruro de bis(trifenilfosfina)paladio(II) (57,2 mg, 0,082 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 100 °C durante 16 horas, se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó con acetato de etilo. La mezcla se lavó con una solución de salmuera y la capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró al vacío para proporcionar el compuesto crudo. El compuesto crudo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (SiO₂, columna de 24 g, 0-5 %MeOH/DCM), las fracciones del producto combinadas se concentraron bajo presión reducida para proporcionar (4S)-5-amino-4-(5-(6-amino-4,5-dimetilpiridin-2-il)-4-fluoro-3-metil-1-oxoisoindolin-2-il)-5-oxopentanoato de *terc*-butilo (270 mg, 70,4 % de rendimiento) como un sólido de color marrón pálido. LCMS (Método A): tiempo de retención 1,64 min, [M+H]⁺ 471,2 ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,99 (t, J=6,9 Hz, 1H), 7,59 (s, 1H), 7,47 (br s, 1H), 7,30-7,13 (m, 2H), 6,90 (s, 1H), 5,74 (br d, J=5,3 Hz, 2H), 4,89 (q, J=6,1 Hz, 1H), 4,50-4,37 (m, 1H), 2,31-2,19 (m, 6H), 2,04 (s, 3H), 1,55-1,45 (m, 3H), 1,37 (d, J=2,9 Hz, 9H).

Ejemplos 16 y 17:

A una solución agitada de (4S)-5-amino-4-(5-(6-amino-4,5-dimetilpiridin-2-il)-4-fluoro-3-metil-1-oxoisoindolin-2-il)-5-oxopentanoato de *terc*-butilo (270 mg, 0,574 mmol) en acetonitrilo (10 ml), se añadió PTOH (218 mg, 1,148 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 120° C bajo microondas durante 30 minutos. Los volátiles se eliminaron bajo presión reducida y el producto crudo resultante se purificó mediante HPLC preparativa utilizando el método orgánico polar (CELULOSA-2 [250 x 4,6 mm], 10 mM de acetato de amonio en MeOH, Flujo: 23 ml/min (gradiente isocrático)), las primeras fracciones de isómeros que eluyeron a un tiempo de retención de 9,73 min se concentraron a sequedad y se liofilizaron para proporcionar 3-((S)-5-(6-amino-4,5-dimetilpiridin-2-il)-4-fluoro-3-metil-1-oxoisoindolin-2-il) piperidina-2,6-diona (60 mg,

rendimiento 27 %). LCMS (Método G): tiempo de retención 1,83 min, $[M+H]^+$ 397,1; 1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11,10-10,87 (m, 1H), 8,01 (t, $J=7,3$ Hz, 1H), 7,57 (d, $J=8,0$ Hz, 1H), 6,92 (d, $J=2,0$ Hz, 1H), 5,78 (s, 2H), 5,01 (q, $J=6,5$ Hz, 1H), 4,73 (br dd, $J=12,3, 4,8$ Hz, 1H), 2,82-2,67 (m, 1H), 2,64-2,55 (m, 2H), 2,23 (s, 3H), 2,04 (s, 3H), 1,54 (d, $J=7,0$ Hz, 3H). Las fracciones del segundo pico eluido con un tiempo de retención de 13,96 min se concentraron a sequedad y se liofilizaron para proporcionar 3-((R)-5-(6-amino-4,5-dimetilpiridin-2-il)-4-fluoro-3-metil -1-oxoisindolin-2-il)piperidin-2,6-diona (70 mg, 31 % de rendimiento). LCMS (Método G): tiempo de retención 1,84 min, $[M+H]^+$ 397,1; 1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11,07-10,89 (m, 1H), 8,01 (t, $J=7,1$ Hz, 1H), 7,58 (d, $J=8,0$ Hz, 1H), 6,91 (s, 1H), 5,79 (s, 2H), 4,89 (q, $J=6,5$ Hz, 1H), 4,80 (dd, $J=12,6, 5,1$ Hz, 1H), 2,94-2,78 (m, 1H), 2,73-2,59 (m, 2H), 2,22 (s, 3H), 2,03 (s, 3H), 1,51 (d, $J=6,8$ Hz, 3H).

Método A: ACQUITY UPLC® BEH C18 (3,0 x 50 mm) 1,7 μ m; Fase móvil A: 95:5 agua: acetonitrilo con NH_4OAc 2,5 mM; Fase móvil B: 5:95 agua: acetonitrilo con NH_4OAc 2,5 mM; Temperatura: 40 °C; Gradiente: 20 % de B a 100 % de B durante 2 min; flujo: 0,7 ml/min; Detección: MS y UV (220 nm).

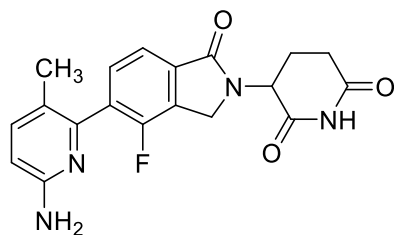
Método B: Columna: XBridge BEH XP C18 (50 x 2,1) mm, 2,5 μ m; Fase móvil A: 95:5 agua: acetonitrilo con NH_4OAc 10 mM; Fase móvil B: 5:95 agua: acetonitrilo con NH_4OAc 10 mM; Temperatura: 50 °C; Gradiente: 0 % B a 100 % de B durante 3 min; Flujo: 1,1 ml/min; Detección: MS y UV (220 nm).

Método D: Columna-Kinetex XB-C18 (75 X 3 mm-2,6 μ m); Fase móvil A: 5 mM de NH_4COOH en agua; Fase móvil B: Acetonitrilo; Gradiente: 10 %B a 50 %B durante 3 min, Flujo: 1,0 ml/min; 50 %B a 100 %B hasta 4,1 min, Flujo: 1,0 ml/min; mantener hasta 4,5 min; 4,5 min a 5,0 min 90 %B Flujo: 1,5 ml/min; Detección: MS y UV (220 nm).

Método G: Columna-Kinetex XB-C18 (75 X 3 mm-2,6 μ m); Fase móvil A: 5 mM de NH_4CO_2H en agua; Fase móvil B: Acetonitrilo; Gradiente: 20 %B a 100 %B durante 4 min, Flujo: 1,0 ml/min; mantener por 4,6 min, Flujo: 1,5 ml/min; mantener por 4,7 min; 4,7 min a 5,0 min 20 % B, Flujo: 1,0 ml/min; Detección: MS y UV (220 nm).

EJEMPLO 18

3-(5-(6-amino-3-metilpiridin-2-il)-4-fluoro-1-oxoisindolin-2-il)piperidina-2,6-diona



(18)

El Ejemplo 18 se sintetizó a partir de 6-cloropiridin-2-amina y el Intermedio 3B

5 usando el Procedimiento General 2. El producto crudo se purificó por LCMS preparativa (Columna: Waters XBridge C18, 150 mm x 19 mm, partículas de 5- μ 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, 10-30 % B durante 20 minutos, luego se mantuvo 5 minutos a 100 %

10 B; Tasa de flujo: 20 ml/min. LCMS (Método B): tiempo de retención 0,98 min, $[M+H]^+$ 369,1; 1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11,04 (s, 1H), 7,77 (br d, $J = 7,6$ Hz, 2H), 7,74-7,68 (m, 1H), 6,93-6,87 (m, 1H), 5,17 (dd, $J = 13,3, 5,1$ Hz, 1H), 4,67 (d, $J = 17,6$ Hz, 1H), 4,55-4,47 (m, 1H), 3,01-2,89 (m, 2H), 2,67-2,61 (m, 1H), 2,47-2,39 (m, 1H), 2,04 (s, 3H).

15

Procedimiento general 4:

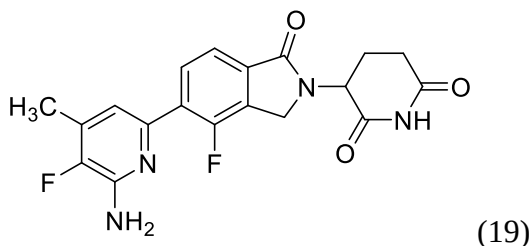
Una mezcla de haluro de arilo (1 eq.), éster de pinacol de ácido arilborónico (1,0 eq.), carbonato de potasio (1,5 eq.), dioxano (4 ml/mmol) y agua (0,4 ml/mmol) se purgó con argón durante 5 minutos a temperatura ambiente. Se añadió complejo de dicloruro de

20 [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]paladio(II) diclorometano (0,05 eq.) y la mezcla de reacción se calentó a 110 °C durante 2 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con EtOAc y se filtró a través de una capa de celite. El filtrado se lavó con solución de salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida.

25 El producto aislado se disolvió en acetonitrilo, se añadió pTSA $\cdot$ H $_2$ O (2 eq.) y la mezcla se calentó a 120 °C durante 1,5 h en un reactor de microondas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se concentró a presión reducida y el producto crudo se purificó mediante HPLC preparativa para proporcionar el producto deseado.

EJEMPLO 19

3-(5-(6-amino-5-fluoro-4-metilpiridin-2-il)-4-fluoro-1-oxoisoindolin-2-il)piperidina-2,6-diona



5 Intermedios 19A y 19B: 6-Bromo-3-fluoro-4-metilpiridin-2-amina y 6-bromo-5-fluoro-4-metilpiridin-2-amina

A una solución de 6-bromo-4-metilpiridin-2-amina (2,6 g, 13,90 mmol) en cloroformo (100 ml) y agua (100 ml) se añadió Selectfluor (2,462 g, 6,95 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 48 horas. La mezcla de reacción se diluyó con DCM (200 ml), se lavó con una solución de salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró bajo presión reducida. El residuo obtenido se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (SiO₂, columna de 80 g, 0-30 % EtOAc/éter de petróleo) para proporcionar el Intermedio 19A: 6-bromo-3-fluoro-4-metilpiridin-2-amina (600 mg, 19,6 % de rendimiento); LCMS (Método A): tiempo de retención 1,21 min, [M+H]⁺ 207,1. ¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ 6,60 (d, *J* = 4,2 Hz, 1H), 6,55 (s, 2H), 2,13 (d, *J* = 1,9 Hz, 3H); e Intermedio 19B: 6-bromo-5-fluoro-4-metilpiridin-2-amina (500 mg, 4,4 % del rendimiento); LCMS (Método A): tiempo de retención 1,14, [M+H]⁺ 207,1; ¹H RMN (300 MHz, CLOROFORMO-d) δ 6,25 (d, *J* = 4,2 Hz, 1H), 4,52-4,22 (m, 2H), 2,23 (d, *J* = 1,1 Hz, 3H).

20

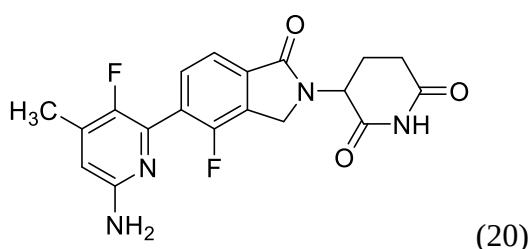
Ejemplo 19:

El Ejemplo 19 se sintetizó usando el Procedimiento General 4 con 6-bromo-3-fluoro-4-metilpiridin-2-amina y (S)-5-amino-4-(4-fluoro-1-oxo-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)isoindolin-2-il)-5-oxopentanoato de *tert*-butilo (sintetizado por los procedimientos mostrados en el Ejemplo 2 comenzando con el ácido 4-bromo-3-fluoro-2-metilbenzoico). El producto crudo se purificó por LCMS preparativa (Columna: YMC EXRS 250 mm x 21 mm, 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, 10-30 % B durante 20 minutos, luego se mantuvo 5 minutos a 100 % B; Tasa de flujo: 20 ml/min LCMS (Método D): tiempo de retención 1,56 min, $[M+H]^+$ 387,15; 1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11,02 (s, 1H), 8,09-7,92 (m, 1H), 7,66 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,32-6,78 (m, 1H), 5,14 (dd, $J = 13,8, 5,8$ Hz, 1H), 4,74-4,33 (m, 2H), 2,98-2,86 (m, 1H), 2,68-2,56 (m, 2H), 2,24 (s, 3H), 22,09-2,05 (m, 1H).

EJEMPLO 20

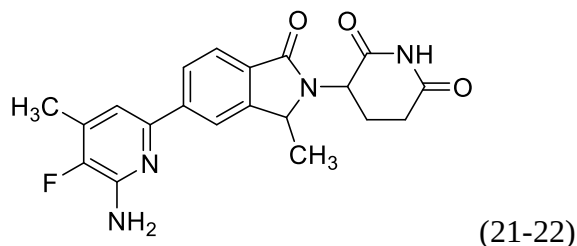
3-(5-(6-amino-3-fluoro-4-metilpiridin-2-il)-4-fluoro-1-oxoisindolin-2-il)piperidina-2,6-diona



El Ejemplo 20 se sintetizó usando el Procedimiento General 4 con 6-bromo-5-fluoro-4-metilpiridin-2-amina y (S)-5-amino-4-(4-fluoro-1-oxo-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)isindolin-2-il)-5-oxopentanoato de *tert*-butilo (sintetizado por los procedimientos mostrados en el Ejemplo 2 comenzando con el ácido 4-bromo-3-fluoro-2-metilbenzoico). El producto crudo se purificó por LCMS preparativa (Columna: Waters XBridge C18, 150 mm x 19 mm, partículas de 5- μ 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, 10-30 % B durante 20 minutos, luego se mantuvo 5 minutos a 100 % B; Tasa de flujo: 20 ml/min. LCMS (Método B): tiempo de retención 1,03 min, $[M+H]^+$ 387,1; 1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11,04 (s, 1H), 7,74-7,57 (m, 2H), 6,46 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 5,97 (s, 2H), 5,16 (dd, $J = 5,0, 13,3$ Hz, 1H), 4,65 (d, $J = 17,5$ Hz, 1H), 4,52-4,42 (m, 1H), 3,03-2,86 (m, 1H), 2,68-2,59 (m, 1H), 2,49-2,41 (m, 1H), 2,21 (s, 3H), 2,12-1,99 (m, 1H).

EJEMPLOS 21 Y 22

3-(5-(6-amino-5-fluoro-4-metilpiridin-2-il)-4-fluoro-3-metil-1-oxoisindolin-2-il)piperidina-2,6-diona



Intermedio 21A: (4S)-5-amino-4-(3-metil-1-oxo-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il) isoindolin-2-il)-5-oxopentanoato de *terc*-butilo

Una mezcla del Intermedio 8D (1,0 g, 2,43 mmol), acetato de potasio (0,239 g, 2,43 mmol) y Bispin (0,617 g, 2,43 mmol) en DME anhidro (15 ml) se purgó con argón durante 10 min a temperatura ambiente. Se añadió aducto de PdCl₂(dppf)-CH₂Cl₂ (0,159 g, 0,195 mmol) en atmósfera de argón. El vial se selló y la mezcla se calentó a 90 °C durante 12 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se filtró a través de una capa de celite y el filtrado se concentró bajo presión reducida. El residuo se disolvió en éter dietílico y se filtró a través de una capa de celite. El filtrado se concentró bajo presión reducida para producir (4S)-5-amino-4-(3-metil-1-oxo-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)isoindolin-2-il)-5-oxopentanoato de *terc*-butilo (1,0 g, 90 % de rendimiento). LCMS (Método A): tiempo de retención 1,70 min, [M+H]⁺ 459,1.

Preparación de 21B y 22B: (4S)-5-amino-4-(5-(6-amino-5-fluoro-4-metilpiridin-2-il)-3-metil-1-oxoisoindolin-2-il)-5-oxopentanoato de *terc*-butilo

A una solución de (4S)-5-amino-4-(3-metil-1-oxo-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il) isoindolin-2-il)-5-oxopentanoato de *terc*-butilo (0,241 g, 0,527 mmol) en dioxano (10 ml) se añadió 6-bromo-3-fluoro-4-metilpiridin-2-amina (0,09 g, 0,44 mmol) seguido de bicarbonato de sodio (solución 0,5 M, 2,195 ml, 1,097 mmol). La mezcla de reacción se purgó con nitrógeno durante 15 min a temperatura ambiente, se añadió cloruro de bis(trifenilfosfina)paladio(II) (0,031 g, 0,044 mmol) bajo nitrógeno y se calentó a 100 °C durante 12 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se filtró a través de una capa de celite y se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (SiO₂, columna de 24 g, 50-100 % EtOAc/DCM) para proporcionar (4S)-5-amino-4-(5-(6-amino-5-fluoro-4-metilpiridin-2-il)-3-metil-1-oxoisoindolin-2-il)-5-oxopentanoato de *terc*-butilo (150 mg) como mezcla de diastereoisómeros. Los diastereoisómeros se separaron por SFC (Column Chiral Pak

IG (250*4,6) mm, 5 μ m; %CO₂: 45 %; % cosolvente: 5 mM de acetato amónico en metanol y acetonitrilo (1:1); flujo: 4 g/min; temperatura: 30 °C; UV: 237 nm), las primeras fracciones de isómeros que eluyeron con un tiempo de retención de 3,4 min se concentraron hasta sequedad para producir (4S)-5-amino-4-(5-(6-amino-5-fluoro-4-metilpiridin-2-il)-3-metil-1-oxoisindolin-2-il)-5-oxopentanoato de *terc*-butilo (40 mg, 20 % de rendimiento). LCMS (Método A): tiempo de retención 1,41, [M+H]⁺ 457,1 y las fracciones del segundo pico eluidas a los 4,6 min de tiempo de retención se concentraron para proporcionar (4S)-5-amino-4-(5-(6-amino-5-fluoro-4-metilpiridin-2-il)-3-metil-1-oxoisindolin-2-il)-5-oxopentanoato de *terc*-butilo (50 mg, 25 % de rendimiento). LCMS (Método A): tiempo de retención 1,40, [M+H]⁺ 457,4.

Ejemplo 21:

A una solución agitada de (4S)-5-amino-4-(5-(6-amino-5-fluoro-4-metilpiridin-2-il)-3-metil-1-oxoisindolin-2-il)-5-oxopentanoato (0,04 g, 0,088 mmol) en acetonitrilo (10 ml), se añadió ácido bencenosulfónico (0,028 g, 0,175 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 120° C bajo microondas durante 30 minutos. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se concentró bajo presión reducida y se purificó mediante LCMS preparativa (Columna: Waters XBridge C18, 150 mm x 19 mm, partículas de 5- μ 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, 10-30 % B durante 20 minutos, luego se mantuvo 5 minutos a 100 % B; Tasa de flujo: 20 ml/min. LCMS (Método B): tiempo de retención 1,19 min, [M+H]⁺ 383,1; ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10,95 (s, 1H), 8,14 (s, 1H), 8,07 (dd, *J* = 1,1, 8,1 Hz, 1H), 7,72 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,17 (d, *J* = 4,4 Hz, 1H), 4,82-4,67 (m, 2H), 2,93-2,79 (m, 1H), 2,71-2,59 (m, 2H), 2,26 (s, 3H), 2,05-1,96 (m, 1H), 1,48 (d, *J* = 6,6 Hz, 3H).

Ejemplo 22:

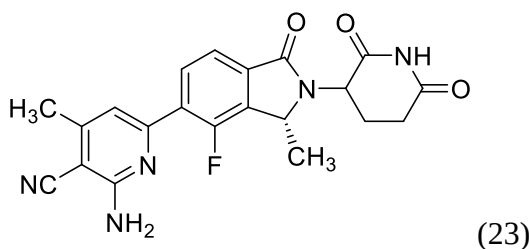
A una solución agitada de (4S)-5-amino-4-(5-(6-amino-5-fluoro-4-metilpiridin-2-il)-3-metil-1-oxoisindolin-2-il)-5-oxopentanoato (0,04 g, 0,088 mmol) en acetonitrilo (10 ml), se añadió ácido bencenosulfónico (0,028 g, 0,175 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 120° C bajo microondas durante 30 minutos. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se concentró bajo presión reducida y el residuo se purificó

mediante LCMS preparativa (Columna: Waters XBridge C18, 150 mm x 19 mm, partículas de 5- μ 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, 10-30 % B durante 20 minutos, luego se mantuvo 5 minutos a 100 % B; Tasa de flujo: 20 ml/min. LCMS (Método B): tiempo de retención 1,19 min, $[M+H]^+$ 383,1; 1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 10,92 (s, 1H), 8,16 (s, 1H), 8,07 (dd, $J = 1,1, 8,0$ Hz, 1H), 7,70 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,17 (d, $J = 4,3$ Hz, 1H), 6,26 (br s, 2H), 4,83 (q, $J = 6,6$ Hz, 1H), 4,74 (br dd, $J = 4,3, 11,3$ Hz, 1H), 2,83-2,71 (m, 1H), 2,64-2,55 (m, 2H), 2,25 (d, $J = 1,5$ Hz, 3H), 2,09 -1,96 (m, 1H), 1,50 (d, $J = 6,6$ Hz, 3H).

10

EJEMPLO 23

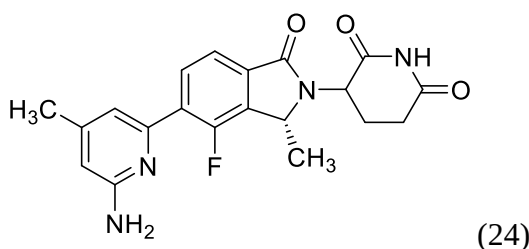
2-amino-6-((3R)-2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-4-fluoro-3-metil-1-oxoisoindolin-5-il)-4-metilnicotinonitrilo



El ejemplo 23 se sintetizó a partir de 2-amino-6-cloro-4-metilnicotinonitrilo y (S)-5-amino-4-((R)-4-fluoro-3-metil-1-oxo-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)isoindolin-2-il)-5-oxopentanoato de *terc*-butilo (sintetizado por procedimientos mostrados en el Ejemplo 2 comenzando con ácido 4-bromo-3-fluoro-2-metilbenzoico) utilizando el procedimiento general 4. El producto crudo se purificó por LCMS preparativa (Columna: Waters XBridge C18, 150 mm x 19 mm, partículas de 5- μ 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, 10-30 % B durante 20 minutos, luego se mantuvo 5 minutos a 100 % B; Tasa de flujo: 20 ml/min. LCMS (Método B): tiempo de retención 1,19 min, $[M+H]^+$ 408,0; 1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11,00 (s, 1H), 8,17-7,85 (m, 1H), 7,73-7,52 (m, 1H), 7,05 (s, 1H), 6,99 (s, 2H), 5,08-4,89 (m, 1H), 4,86-4,72 (m, 1H), 2,90-2,75 (m, 1H), 2,74-2,58 (m, 2H), 2,42 (s, 3H), 2,12-2,00 (m, 1H), 1,57-1,47 (m, 3H).

EJEMPLO 24

3-((*R*)-5-(6-amino-4-metilpiridin-2-il)-4-fluoro-3-metil-1-oxoisindolin-2-il) piperidina-2,6-diona



5 El ejemplo 24 se sintetizó a partir de 6-cloro-4-metilpiridin-2-amina y (S)-5-amino-4-((*R*)-4-fluoro-3-metil-1-oxo-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)isindolin-2-il)-5-oxopentanoato de *tert*-butilo (sintetizado por procedimientos mostrados en el Ejemplo 2 comenzando con ácido 4-bromo-3-fluoro-2-metilbenzoico) usando el Procedimiento General 4. El producto crudo se purificó por LCMS preparativa

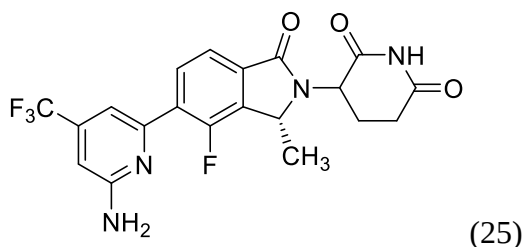
10 (Columna: Waters XBridge C18, 150 mm x 19 mm, partículas de 5- μ m; fase móvil A: 5:95 acetonitrilo: agua con ácido trifluoroacético al 0,1 %; Fase móvil B: 95:5 acetonitrilo: agua con ácido trifluoroacético al 0,1 %; Gradiente: una retención de 0 minutos al 10 % B, 10-30 % B durante 20 minutos, luego se mantuvo 5 minutos a 100 % B; Tasa de flujo: 20 ml/min. LCMS (Método B): tiempo de retención 1,20 min, $[M+H]^+$

15 383,2; 1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11,00 (d, $J = 0,8$ Hz, 1H), 8,01-7,84 (m, 1H), 7,71 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H), 6,96 (br d, $J = 1,0$ Hz, 1H), 6,71-6,54 (m, 1H), 4,99-4,91 (m, 1H), 4,87-4,78 (m, 1H), 2,86 (br dd, $J = 4,4, 3,4$ Hz, 1H), 2,75-2,62 (m, 2H), 2,47-2,44 (m, 1H), 2,34 (s, 4H), 1,94 (d, $J = 16,0$ Hz, 1H), 1,53 (d, $J = 6,8$ Hz, 3H).

20

EJEMPLO 25

3-((*R*)-5-(6-Amino-4-(trifluorometil)piridin-2-il)-4-fluoro-3-metil-1-oxoisindolin-2-il)piperidina-2,6-diona



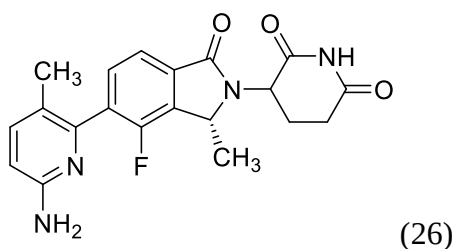
El ejemplo 25 se sintetizó a partir de 6-cloro-4-(trifluorometil)piridin-2-amina y (S)-5-amino-4-((*R*)-4-fluoro-3-metil-1-oxo-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-

25

il)isoindolin-2-il)-5-oxopentanoato de *terc*-butilo (sintetizado por los procedimientos mostrados en el Ejemplo 2 comenzando con ácido 4-bromo-3-fluoro-2-metilbenzoico) utilizando el procedimiento general 4. El producto crudo se purificó por LCMS preparativa (Columna: Waters XBridge C18, 150 mm x 19 mm, partículas de 5- μ 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, 10-30 % B durante 20 minutos, luego se mantuvo 5 minutos a 100 % B; Tasa de flujo: 20 ml/min. LCMS (Método B): tiempo de retención 1,39 min, $[M+H]^+$ 438,1; 1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 10,99 (s, 1H), 8,13-7,95 (m, 1H), 7,65 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 7,15 (s, 1H), 6,79 (s, 2H), 4,98-4,88 (m, 1H), 4,86-4,77 (m, 1H), 2,85 (br s, 1H), 2,93-2,78 (m, 1H), 2,72-2,59 (m, 2H), 2,08-2,00 (m, 1H), 1,52 (d, J = 6,8 Hz, 3H).

EJEMPLO 26

3-((*R*)-5-(6-amino-3-metilpiridin-2-il)-4-fluoro-3-metil-1-oxoisoindolin-2-il) piperidina-2,6-diona

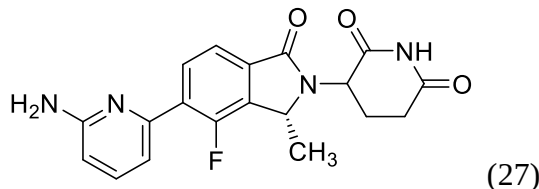


El ejemplo 26 se sintetizó a partir de 6-cloro-5-metilpiridin-2-amina y (S)-5-amino-4-((*R*)-4-fluoro-3-metil-1-oxo-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)isoindolin-2-il)-5-oxopentanoato de *terc*-butilo (sintetizado por procedimientos mostrados en el Ejemplo 2 comenzando con ácido 4-bromo-3-fluoro-2-metilbenzoico) utilizando el procedimiento general 4. El producto crudo se purificó por LCMS preparativa (Columna: Waters XBridge C18, 150 mm x 19 mm, partículas de 5- μ 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, 10-30 % B durante 20 minutos, luego se mantuvo 5 minutos a 100 % B; Tasa de flujo: 20 ml/min. LCMS (Método B): tiempo de retención 1,07 min, $[M+H]^+$ 383,1; 1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11,01 (s, 1H), 7,90-7,77 (m, 1H), 7,74-7,61 (m, 2H), 6,86 (br dd, J = 5,5, 3,9 Hz, 1H), 4,96 (q, J = 6,5 Hz, 1H), 4,84 (dd, J = 12,6, 5,1 Hz,

1H), 3,01-2,82 (m, 2H), 2,71-2,60 (m, 2H), 2,12-2,01 (m, 5H), 1,51 (d, $J = 6,6$ Hz, 3H).

EJEMPLO 27

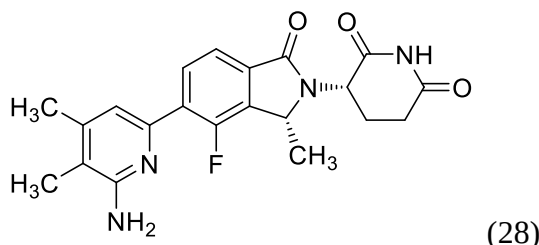
3-((*R*)-5-(6-aminopiridin-2-il)-4-fluoro-3-metil-1-oxoisindolin-2-il) piperidina-2,6-diona



El ejemplo 27 se sintetizó a partir de 6-cloropiridin-2-amina y (*S*)-5-amino-4-((*R*)-4-fluoro-3-metil-1-oxo-5-(4,4, 5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il) isoindolin-2-il)-5-oxopentanoato de *tert*-butilo (sintetizado por los procedimientos mostrados en el Ejemplo 2 comenzando con ácido 4-bromo-3-fluoro-2-metilbenzoico) usando el Procedimiento General 4. El producto crudo se purificó por LCMS preparativa (Columna: Waters XBridge C18, 150 mm x 19 mm, partículas de 5- μ 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, 10-30 % B durante 20 minutos, luego se mantuvo 5 minutos a 100 % B; Tasa de flujo: 20 ml/min. LCMS (Método B): tiempo de retención 1,01 min, $[M+H]^+$ 369,1; ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7,95 (t, $J = 7,1$ Hz, 1H), 7,81-7,62 (m, 2H), 7,22 (s, 1H), 7,09 (s, 1H), 7,04 (br d, $J = 7,0$ Hz, 1H), 6,97 (s, 1H), 6,78-6,72 (m, 1H), 4,93 (q, $J = 6,5$ Hz, 1H), 4,82 (dd, $J = 12,4, 5,3$ Hz, 1H), 2,91-2,83 (m, 1H), 2,75-2,60 (m, 2H), 2,36-2,32 (m, 1H), 1,52 (d, $J = 6,8$ Hz, 3H).

EJEMPLO 28

(*R*)-3-((*R*)-5-(6-amino-4,5-dimetilpiridin-2-il)-4-fluoro-3-metil-1-oxoisindolin-2-il)piperidina-2,6-diona



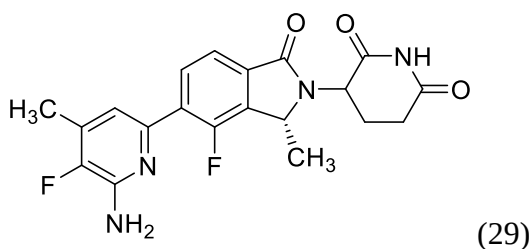
A una solución agitada del Ejemplo 17 (250 mg, 0,531 mmol) en acetonitrilo (4 ml) se añadió TFA (1 ml, 13,81 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 90 °C durante

2 horas. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida y el producto crudo se purificó mediante SFC preparativa (Chiral Pak IC (250 X 50) mm, 5 μ m; %CO₂: 50 %; % cosolvente: 50 % de 5 mM de acetato de amonio en ACN:MEOH (50:50); flujo: 300,0 g/min; temperatura: 40 °C; UV: 240 nm), las primeras fracciones de isómeros que

5 eluyeron con un tiempo de retención de 6,9 min se concentraron hasta sequedad y se liofilizaron para proporcionar (R)-3-((R)-5-(6-amino-4,5-dimetilpiridin-2-il)- 4-fluoro-3-metil-1-oxoisindolin-2-il)piperidina-2,6-diona (15 mg, 7 % rendimiento). LCMS (Método D): tiempo de retención 1,28 min, [M+H]⁺ 397,1; ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10,97-10,89 (m, 1H), 7,99 (br d, *J* = 6,8 Hz, 1H), 7,57 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,91 (s, 1H), 5,80 (s, 2H), 5,00 (q, *J* = 6,7 Hz, 1H), 4,76-4,67 (m, 1H), 2,82-2,70 (m, 1H), 2,67-2,55 (m, 2H), 2,22 (s, 3H), 2,03 (s, 4H), 1,53 (d, *J* = 6,8 Hz, 3H).

EJEMPLO 29

3-((R)-5-(6-amino-5-fluoro-4-metilpiridin-2-il)-4-fluoro-3-metil-1-oxoisindolin-2-il)piperidina-2,6-diona

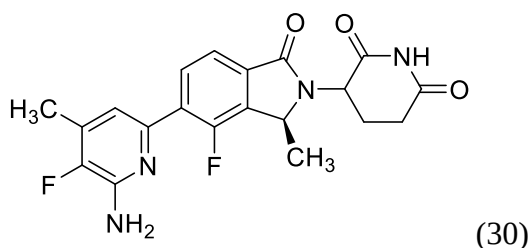


El ejemplo 29 se sintetizó a partir de 6-cloro-3-fluoro-4-metilpiridin-2-amina y (S)-5-amino-4-((R)-4-fluoro-3-metil-1-oxo -5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)isindolin-2-il)-5-oxopentanoato de *terc*-butilo (sintetizado por procedimientos mostrados en el Ejemplo 2 comenzando con ácido 4-bromo-3-fluoro-2-metilbenzoico) usando el Procedimiento General 4. El producto crudo se purificó por LCMS preparativa (Columna: Waters XBridge C18, 150 mm x 19 mm, partículas de 5- μ 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, 10-30 % B durante 20 minutos, luego se mantuvo 5 minutos a 100 % B; Tasa de flujo: 20 ml/min. LCMS (Método B): tiempo de retención 1,18 min, [M+H]⁺ 401,3; ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10,98 (s, 1H), 7,95 (t, *J* = 7,1 Hz, 1H), 7,60 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 6,93 (d, *J* = 3,3 Hz, 1H), 4,90 (q, *J* = 6,6 Hz, 1H), 4,80 (dd, *J* = 4,9, 12,9

Hz, 1H), 2,89-2,78 (m, 1H), 2,70-2,60 (m, 2H), 2,24 (s, 3H), 2,07-1,97 (m, 1H), 1,51 (d, $J = 6,5$ Hz, 3H).

EJEMPLO 30

- 5 3-((S)-5-(6-amino-5-fluoro-4-metilpiridin-2-il)-4-fluoro-3-metil-1-oxoisindolin-2-il)piperidina-2,6-diona



Preparación de 30A: 3-Fluoro-4-metil-6-(trimetilestannil)piridin-2-amina

- Una solución agitada de 6-bromo-3-fluoro-4-metilpiridin-2-amina (0,05 g, 0,24 mmol) y hexametilditina (0,076 ml, 0,366 mmol) en tolueno (3 ml) se purgó con argón durante cinco minutos seguido de la adición de [1,1'-bis(di-terc-butilfosfino)ferroceno]dicloropaladio(II) (0,016 g, 0,024 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 15 horas 100 °C, se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. El filtrado se concentró bajo presión reducida para proporcionar 3-fluoro-4-metil-6-(trimetilestannil)piridin-2-amina (69 mg, 82 % de rendimiento). LCMS (Método A): tiempo de retención 1,68, $[M+H]^+$ 289,2.

Ejemplo 30:

- El acoplamiento de Stille y la ciclación se lograron siguiendo el Procedimiento General 2 con el Intermedio 30A y el Intermedio 16D. LCMS (Método D): tiempo de retención 1,17 min, $[M+H]^+$ 401,3; 1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 10,94 (s, 1H), 7,94 (t, $J = 7,3$ Hz, 1H), 7,58 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 6,93 (d, $J = 3,3$ Hz, 1H), 6,31 (br s, 2H), 5,01 (q, $J = 6,6$ Hz, 1H), 4,72 (dd, $J = 4,9, 11,9$ Hz, 1H), 2,79-2,67 (m, 1H), 2,64-2,55 (m, 2H), 2,24 (s, 3H), 2,07-1,98 (m, 1H), 1,53 (d, $J = 6,8$ Hz, 3H).

25

ENSAYOS BIOLÓGICOS

Las propiedades farmacológicas de los compuestos de esta invención pueden confirmarse mediante varios ensayos biológicos. Los ensayos biológicos ejemplificados,

que siguen, se han llevado a cabo con compuestos de la invención.

Ensayo de degradación celular de Helios

Las células Jurkat se sembraron en placas a 80.000 células/pocillo en 40 µl de RPMI+FBS al 10 % en una placa de cultivo celular de 384 pocillos antes de usar la tecnología de dispensación acústica para añadir el compuesto de interés. Los cultivos celulares se incubaron durante 72 horas a 37 °C y CO₂ al 5 %. Para facilitar el análisis, los cultivos celulares se centrifugaron a 200 rpm durante 5 min y se descartó el sobrenadante. Después de agitar la placa para desalojar el sedimento celular, las células se suspendieron nuevamente en 50 µl de amortiguador de fijación (conjunto de amortiguadores eBioScience FoxP3 00-5523-00) durante 60 min a temperatura ambiente. Después de centrifugar y desechar el sobrenadante, las células se permeabilizaron con 50 µl de amortiguador de permeabilización (conjunto de amortiguadores eBioScience FoxP3 00-5523-00) durante 10 min a temperatura ambiente. Después de la permeabilización, las células se centrifugaron y el sobrenadante se reemplazó con 20 µL de anticuerpos marcados con fluorescencia contra Helios, Ikaros y Aiolos o con los controles de isotipo correspondientes en amortiguador de permeabilización 1x (Ikaros-Alexa488 [Biolegend, Cat #368408, 1:50], Helios-PE [CST, Cat #29360, 1:50], Aiolos-Alexa647 [Biolegend, Cat #371106Biolegend, 1:25]) y las reacciones de tinción se incubaron durante 1 hora a temperatura ambiente; protegidas de la luz. Posteriormente, se añadieron 30 µL de amortiguador de permeabilización 1x antes de centrifugar las células y descartar el sobrenadante. Las células teñidas se resuspendieron en 25 µl de amortiguador de tinción de citometría de flujo (PBS + BSA al 0,2 %) y se analizaron usando un citómetro de flujo Intellicyt Ique Plus.

TABLA 4

P. ej. No.	Helios Jurkat IC ₅₀ (uM)	Ikaros Jurkat IC ₅₀ (uM)
1	1,4	>10
3	0,003	>10
7	0,001	>10
9	0,003	>10

10	0,31	>10
11	0,006	>10
12	0,033	>10
13	2,8	>10
14	1,0	>10
15	0,057	>10
16	0,56	>10
17	0,007	>10
19	0,0035	>10
20	490	>10
21	0,0058	>10
22	0,20	>10
23	0,035	>10
24	0,16	>10
25	1,3	>10
29	0,024	>10
30	0,70	>10