

## TERAPIAS DE COMBINACIÓN

### CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se relaciona con combinaciones novedosas que  
5 comprenden una cantidad terapéuticamente efectiva de un inhibidor de la leucemia 1  
de linaje mixto de menina (menina-MLL) de Fórmula (I), o una sal o solvato  
farmacéuticamente aceptable de este; y una cantidad terapéuticamente efectiva de al  
menos un otro agente terapéutico que es un agente hipometilante, un inhibidor de  
citidina desaminasa, un agente intercalante del ADN, un análogo de pirimidina, un  
10 análogo de purina, un inhibidor de quinasa, un inhibidor de CD20, un inhibidor de IDH,  
un agente inmunomodulador o un inhibidor de DHODH; así como a métodos para tratar  
a un sujeto diagnosticado con cáncer usando tales combinaciones.

### ANTECEDENTES DE LA INVENCION

15 El cáncer es la principal causa de muerte en todo el mundo. De los 10 millones de  
muertes por cáncer registradas por GLOBOCAN en 2020, 7,1 % se atribuyen a los  
trastornos hematopoyéticos. Por consiguiente, se necesitan urgentemente nuevas  
modalidades de tratamiento para trastornos hematopoyéticos, incluida la leucemia  
mieloide aguda (AML), el síndrome mielodisplásico (MDS) y la leucemia linfoblástica  
20 aguda (ALL) como se detalla adicionalmente a continuación.

La AML es una neoplasia maligna hematológica común cuya incidencia aumenta  
de 3:100.000 en adultos jóvenes a más de 20:100.000 en adultos mayores. Para  
pacientes <60 años, la supervivencia general (OS) es del 40 al 50 %, pero es solo del  
5 % para pacientes >60 años. La mayoría de los pacientes recién diagnosticados con

AML están por encima de 60 años. En esta población de pacientes, la quimioterapia de inducción estándar frecuentemente no es una opción debido a una mayor mortalidad relacionada con el tratamiento como resultado de la edad y comorbilidades. El estándar de atención para pacientes con AML no apto para la quimioterapia de combinación es el tratamiento con agentes hipometilantes (azacitidina o decitabina) o citarabina en dosis baja. La AML recidivante/refractaria con una mutación de tirosina quinasa 3 similar a FMS (FLT3, por sus siglas en inglés) se trata con un inhibidor de la quinasa FLT3 (p. ej., gilteritinib, midostaurina). A pesar de estos tratamientos de primera línea, la mediana de OS es solo aproximadamente 10 meses. En todos los tipos de AML, la recaída de la enfermedad es común a pesar de una respuesta terapéutica inicial y es la razón más común de muerte. La quimioterapia estándar y el trasplante alogénico de células madre (cuando se usa) frecuentemente no logran erradicar todas las células que propagan el tumor y seleccionar subclones que propagan la leucemia resistente a la quimioterapia. Los pacientes refractarios a la terapia de rescate se tratan paliativamente, ya que las opciones de tratamiento actuales son extremadamente limitadas. Estos pacientes tienen una supervivencia media de 2 meses. Además, los pacientes con MDS recién diagnosticados de riesgo intermedio o alto y aquellos que recaen después de la atención estándar tienen un mal pronóstico y un alto riesgo de progresión a AML. Por lo tanto, existe una necesidad urgente de nuevas modalidades de tratamiento para pacientes con AML y MDS recidivantes/refractarios (R/R), pacientes con AML recién diagnosticados inelegibles para la quimioterapia de inducción basado en la edad y comorbilidades, y pacientes con MDS de riesgo intermedio/alto/muy alto recién diagnosticados.

La ALL es una neoplasia maligna hematológica propagada por la diferenciación, proliferación y acumulación alteradas de células progenitoras linfoides en la médula ósea

y/o sitios extramedulares. La ALL representa el 12 % de todos los casos de leucemia y es la leucemia aguda infantil más común, con una incidencia mundial proyectada para ser de 1 a 4,75 por 100.000 personas. La ALL representa aproximadamente el 20 % de las leucemias adultas. A pesar de las altas tasas de remisión completa (CR) (80 % a 90 %) con terapias actuales, la mayoría de los pacientes adultos con ALL recaen. La tasa de supervivencia global de 5 años es de aproximadamente 30 a 40 % en adultos y pacientes adultos mayores. Por lo tanto, existe una necesidad urgente de nuevas modalidades de tratamiento para el tratamiento del cáncer, en particular la ALL recidivante/refractaria, más particularmente en pacientes adultos y especialmente ancianos.

10

## **BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION**

Las modalidades de la presente invención se relacionan con combinaciones novedosas de un inhibidor de menina-MLL de Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este; y al menos un otro agente terapéutico que es un agente hipometilante, un inhibidor de citidina desaminasa, un agente intercalante del ADN, un análogo de pirimidina, un análogo de purina, un inhibidor de quinasa, un inhibidor de CD20, un inhibidor de IDH, un agente inmunomodulador o un inhibidor de DHODH.

15

Las modalidades de la presente invención se relacionan con usos de tales combinaciones para tratar a un sujeto que ha sido diagnosticado con un trastorno hematopoyético, que incluye, pero no se limita a, cánceres de la sangre, usando un inhibidor de la menina-MLL descrito en la presente descripción en combinación con al menos un otro agente terapéutico.

20

Las modalidades de la presente invención se relacionan con métodos novedosos para tratar a un sujeto que ha sido diagnosticado con un trastorno hematopoyético usando

tales combinaciones. Las modalidades de los métodos novedosos comprenden administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de un inhibidor de menina-MLL como se describe en la presente descripción; y una cantidad terapéuticamente efectiva de al menos un otro agente terapéutico; en donde el inhibidor de menina-MLL es un compuesto de  
5 Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este.

Las modalidades de la presente invención se relacionan con métodos novedosos para tratar a un sujeto que ha sido diagnosticado con un trastorno hematopoyético usando tales combinaciones. Las modalidades de los métodos novedosos comprenden administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de un inhibidor de menina-MLL como se  
10 describe en la presente descripción; y una cantidad terapéuticamente efectiva de al menos un otro agente terapéutico que es un agente hipometilante, un inhibidor de citidina desaminasa, un agente intercalante del ADN, un análogo de pirimidina, un análogo de purina, un inhibidor de quinasa, un inhibidor de CD20, un inhibidor de IDH, un agente inmunomodulador o un inhibidor de DHODH; en donde el inhibidor de menina-MLL es un  
15 compuesto de Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este.

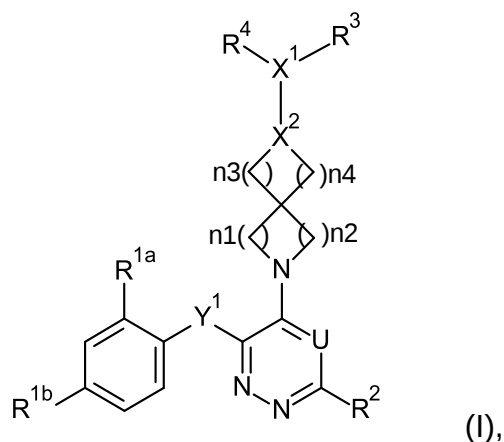
En algunas modalidades, la presente invención está dirigida a métodos para tratar a un sujeto que ha sido diagnosticado con un trastorno hematopoyético, los métodos comprenden administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de un inhibidor de menina-MLL de Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente  
20 aceptable de este; y una cantidad terapéuticamente efectiva de azacitidina o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades, la presente invención está dirigida a métodos para tratar a un sujeto que ha sido diagnosticado con un trastorno hematopoyético, los métodos comprenden administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de

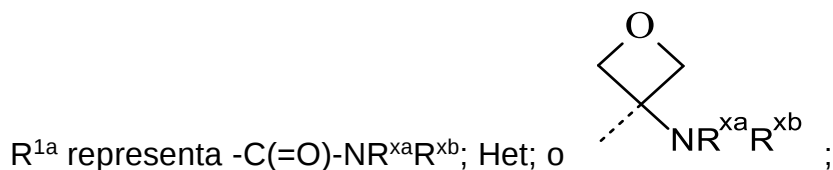
un inhibidor de menina-MLL de Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este; y una cantidad terapéuticamente efectiva de azacitidina o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este; en donde la azacitidina, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este, se administra al sujeto antes de,

5 simultáneamente con o después de la administración del inhibidor de la menina-MLL.

En modalidades, el inhibidor de menina-MLL de Fórmula (I) es:



10 y los tautómeros y las formas estereoisoméricas de estos, en donde



Het representa un anillo aromático monocíclico de 5 o 6 miembros que contiene uno, dos o tres átomos de nitrógeno y opcionalmente una entidad carbonilo;

en donde dicho anillo aromático monocíclico de 5 o 6 miembros se sustituye

15 opcionalmente con uno o dos sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en cicloalquilo  $C_{3-6}$  y alquilo  $C_{1-4}$ ;

$R^{xa}$  y  $R^{xb}$  se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo  $C_{1-4}$  y cicloalquilo  $C_{3-6}$ ;

$R^{1b}$  representa F o Cl;

$Y^1$  representa  $-CR^{5a}R^{5b}-$ ,  $-O-$  o  $-NR^{5c}-$ ;

5  $R^2$  se selecciona del grupo que consiste en: hidrógeno, halo, alquilo  $C_{1-4}$  y O-alquilo  $C_{1-4}$  y  $-NR^{7a}R^{7b}$ ;

U representa N o CH;

$n_1$ ,  $n_2$ ,  $n_3$  y  $n_4$  se seleccionan cada uno independientemente de 1 y 2;

$X^1$  representa CH, y  $X^2$  representa N;

10  $R^4$  representa isopropilo;

$R^{5a}$ ,  $R^{5b}$ ,  $R^{5c}$ ,  $R^{7a}$ , y  $R^{7b}$ , se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo  $C_{1-4}$  y cicloalquilo  $C_{3-6}$ ;

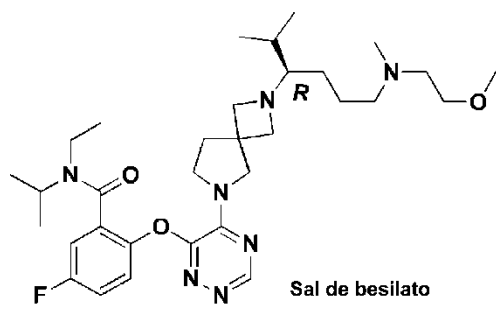
$R^3$  representa alquilo- $C_{1-6}$ - $NR^{8a}R^{8b}$ , alquilo- $C_{1-6}$ - $C(=O)$ - $NR^{9a}R^{9b}$ , alquilo  $C_{1-6}$ -OH, o alquilo- $C_{1-6}$ - $NR^{11}$ - $C(=O)$ -O-alquilo  $C_{1-4}$ -O- $C(=O)$ -alquilo  $C_{1-4}$ ; en donde cada una de las  
15 entidades alquilo  $C_{1-4}$  o alquilo  $C_{1-6}$  en las definiciones  $R^3$  independientemente entre sí pueden estar sustituidas con uno, dos o tres sustituyentes cada uno independientemente seleccionado del grupo que consiste en ciano, halo, -OH, y -O-alquilo  $C_{1-4}$ ;

$R^{8a}$  y  $R^{8b}$  se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno; alquilo  $C_{1-6}$ ;  $-C(O)$ -alquilo  $C_{1-4}$ ;  $-C(=O)$ -O-alquilo  $C_{1-4}$ ;  $-C(=O)$ - $NR^{12a}R^{12b}$ ;  
20 y alquilo  $C_{1-6}$  sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno independientemente seleccionado del grupo que consiste en -OH, ciano, halo,  $-S(=O)_2$ -alquilo  $C_{1-4}$ , -O-alquilo  $C_{1-4}$ ,  $-C(=O)$ - $NR^{10a}R^{10b}$ , y  $-NR^{10c}$ - $C(=O)$ -alquilo  $C_{1-4}$ ; y

$R^{9a}$ ,  $R^{9b}$ ,  $R^{10a}$ ,  $R^{10b}$ ,  $R^{10c}$ ,  $R^{11}$ ,  $R^{12a}$ , y  $R^{12b}$  se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo  $C_{1-6}$ ;

y las sales y los solvatos farmacéuticamente aceptables de estos.

En modalidades particulares, el inhibidor de menina-MLL de Fórmula (I) es sal de besilato (*R*)-N-etil-5-fluoro-N-isopropil-2-((5-(2-(6-((2-metoxietil)(metil)amino)-2-metilhexan-3-il)-2,6-diazaespiro[3.4]octan-6-il)-1,2,4-triazin-6-il)oxi) benzamida (sal de bencenosulfonato):



y solvatos de este.

Una persona experta en la técnica comprenderá que el 'y solvatos de este' se refieren a la sal de besilato de (*R*)-N-etil-5-fluoro-N-isopropil-2-((5-(2-(6-((2-metoxietil)(metil)amino)-2-metilhexan-3-il)-2,6-diazaespiro[3.4]octan-6-il)-1,2,4-triazin-6-il)oxi) benzamida.

En modalidades particulares, el inhibidor de menina-MLL de Fórmula (I) es la sal de besilato de (*R*)-N-etil-5-fluoro-N-isopropil-2-((5-(2-(6-((2-metoxietil)(metil)amino)-2-metilhexan-3-il)-2,6-diazaespiro[3.4]octan-6-il)-1,2,4-triazin-6-il)oxi) benzamida o hidratos de esta.

En modalidades particulares, el inhibidor de menina-MLL de Fórmula (I) es la sal de bis-besilato (*R*)-N-etil-5-fluoro-N-isopropil-2-((5-(2-(6-((2-metoxietil)(metil)amino)-2-metilhexan-3-il)-2,6-diazaespiro[3.4]octan-6-il)-1,2,4-triazin-6-il)oxi) benzamida o solvatos de esta.

En modalidades particulares, el inhibidor de menina-MLL de Fórmula (I) es la sal de bis-besilato (*R*)-N-etil-5-fluoro-N-isopropil-2-((5-(2-(6-((2-metoxietil)(metil)amino)-2-metilhexan-3-il)-2,6-diazaespiro [3.4] octan-6-il)-1,2,4-triazin-6-il) oxi) benzamida o hidratos de esta.

5 En particular, la presente invención está dirigida a sal de bis-besilato (*R*)-N-etil-5-fluoro-N-isopropil-2-(5-(2-(6-(2-metoxietil)(metil)amino)-2-metilhexan-3-il)-2,6-diazaespiro[3.4]octan-6-il)-1,2,4-triazin-6-il)oxi) benzamida de 0,5-2,0 equivalentes hidrato.

En particular, la presente invención está dirigida a sal de bis-besilato de (*R*)-N-etil-5-fluoro-N-isopropil-2-(5-(2-(6-(2-metoxietil)(metil)amino)-2-metilhexan-3-il)-2,6-  
10 diazaespiro[3.4]octan-6-il)-1,2,4-triazin-6-il) oxi) benzamida de 2,0 equivalentes hidrato.

En modalidades particulares, el inhibidor de menina-MLL de Fórmula (I) es una forma cristalina A de sal de bis-besilato (*R*)-N-etil-5-fluoro-N-isopropil-2-((5-(2-(6-((2-metoxietil)(metil)amino)-2-metilhexan-3-il)-2,6-diazaespiro[3.4]octan-6-il)-1,2,4-triazin-6-il) oxi) benzamida o hidrato.

15 En modalidades particulares, el inhibidor de menina-MLL de Fórmula (I) es una forma cristalina A de sal de bis-besilato (*R*)-N-etil-5-fluoro-N-isopropil-2-((5-(2-(6-((2-metoxietil)(metil)amino)-2-metilhexan-3-il)-2,6-diazaespiro[3.4]octan-6-il)-1,2,4-triazin-6-il)oxi) benzamida de 0,5-2,0 equivalentes hidrato.

Más en particular, la presente invención se dirige a una forma cristalina A de sal de  
20 bis-besilato (*R*)-N-etil-5-fluoro-N-isopropil-2-((5-(2-(6-((2-metoxietil)(metil)amino)-2-metilhexan-3-il)-2,6-diazaespiro[3.4]octan-6-il)-1,2,4-triazin-6-il) oxi) benzamida 2,0 equivalentes hidrato.

Otras modalidades, características y ventajas de la invención resultarán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada y mediante la práctica de la invención.

## BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La **Figura 1** es un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) del Compuesto **A4**: una forma cristalina A de sal de bis-besilato (*R*)-N-etil-5-fluoro-N-isopropil-2-((5-(2-(6-((2-metoxietil)(metil)amino)-2-metilhexan-3-il)-2,6-diazaespiro[3.4]octan-6-il)-1,2,4-triazin-6-il)oxi) benzamida o hidrato.

La **Figura 2** representa una comparación de los volúmenes tumorales como una función del tiempo para el grupo de control y para los grupos de tratamiento tratados con un régimen que comprende diversas cantidades del Compuesto **A3**.

La **Figura 3** representa una comparación del porcentaje de supervivencia del tumor como una función del tiempo (p. ej., curvas de supervivencia de Kaplan-Meier) para el grupo de control y para los grupos de tratamiento tratados con un régimen que comprende varias cantidades del Compuesto **A3**.

La **Figura 4A** ilustra una comparación del porcentaje de supervivencia en función del tiempo de los ratones que portan tumores OCI-AML3 establecidos después del tratamiento con vehículo, monoterapia con azacitidina o Compuesto **A1**, o la combinación de doblete del Compuesto **A1** y azacitidina.

La **Figura 4B** ilustra una comparación del porcentaje de supervivencia en función del tiempo de los ratones que portan tumores MOLM-13 establecidos después del tratamiento con vehículo, monoterapia con azacitidina o Compuesto **A1**, o la combinación de doblete del Compuesto **A1** y azacitidina.

La **Figura 5** ilustra una comparación del porcentaje de supervivencia en función del tiempo de los ratones que portan tumores MOLM-13 establecidos después del tratamiento con vehículo, monoterapia con gilteritinib o Compuesto **A1**, o la combinación de doblete del Compuesto **A1** y gilteritinib.

La **Figura 6A** es un gráfico de contorno para maxR que ilustra el efecto del Compuesto **A4** en combinación con gilteritinib en proliferación de células MOLM-13 *in vitro*.

La **Figura 6B** es un gráfico de contorno para maxR que ilustra el efecto del Compuesto **A4** en combinación con gilteritinib en proliferación de células MV4-11 *in vitro*.

5 La **Figura 7A** es un gráfico de contorno para maxR que ilustra el efecto del Compuesto **A4** en combinación con midostaurina en proliferación de células MOLM-13 *in vitro*.

La **Figura 7B** es un gráfico de contorno para maxR que ilustra el efecto del Compuesto **A4** en combinación con midostaurina en proliferación de células MV4-11 *in vitro*.

10 La **Figura 8A** es un gráfico de contorno para maxR que ilustra el efecto del Compuesto **A4** en combinación con idarubicina en proliferación de células MOLM-13 *in vitro*.

La **Figura 8B** es un gráfico de contorno para maxR que ilustra el efecto del Compuesto **A4** en combinación con idarubicina en proliferación de células OCI-AML3 *in vitro*.

15 La **Figura 9A** es un gráfico de contorno para maxR que ilustra el efecto del Compuesto **A4** en combinación con decitabina en proliferación de células MOLM-13 *in vitro*.

La **Figura 9B** es un gráfico de contorno para maxR que ilustra el efecto del Compuesto **A4** en combinación con decitabina en proliferación de células OCI-AML3 *in vitro*.

20 La **Figura 10A** es un gráfico de contorno para maxR que ilustra el efecto del Compuesto **A3** en combinación con el inhibidor de DHODH del Compuesto 22 en proliferación de células MOLM-13 *in vitro*.

La **Figura 10B** es un gráfico de contorno para maxR que ilustra el efecto del Compuesto **A3** en combinación con el inhibidor de DHODH del Compuesto 22 en proliferación de células OCI-AML3 *in vitro*.

La **Figura 11A** ilustra una comparación del porcentaje de supervivencia en función del tiempo de los ratones que portan tumores MOLM-13 establecidos después del tratamiento con vehículo, monoterapia con el inhibidor de la menina-MLL del Compuesto **A1** o el inhibidor de DHODH del Compuesto **22**, o la combinación de doblete del Compuesto **A1** y Compuesto **22**.

La **Figura 11B** ilustra una comparación del porcentaje de supervivencia en función del tiempo de los ratones que portan tumores OCI-AML3 establecidos después del tratamiento con vehículo, monoterapia con el inhibidor de la menina-MLL del Compuesto **A1** o el inhibidor de DHODH del Compuesto **22**, o la combinación de doblete del Compuesto **A1** y Compuesto **22**.

## DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

El término 'halo' o 'halógeno' como se usa en la presente descripción representa fluoro, cloro, bromo y yodo.

El prefijo 'C<sub>x-y</sub>' (donde x e y son enteros) como se usa en la presente descripción se refiere al número de átomos de carbono en un grupo determinado. Por lo tanto, un grupo alquilo C<sub>1-6</sub> contiene de 1 a 6 átomos de carbono, y así sucesivamente.

El término 'alquilo C<sub>1-4</sub>' como se usa en la presente descripción como un grupo o parte de un grupo representa un radical de hidrocarburo saturado de cadena recta o ramificada que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, tal como metilo, etilo, *n*-propilo, isopropilo, *n*-butilo, *s*-butilo, *t*-butilo y lo similar.

Similarmente, el término 'alquilo C<sub>1-6</sub>' como se usa en la presente descripción como un grupo o parte de un grupo representa un radical de hidrocarburo saturado de cadena recta o ramificada que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, tal como metilo, etilo, *n*-propilo, isopropilo, *n*-butilo, *s*-butilo, *t*-butilo, *n*-pentilo, *n*-hexilo y lo similar.

El término 'cicloalquilo C<sub>3-6</sub>' como se usa en la presente descripción como un grupo o parte de un grupo define un radical de hidrocarburo cíclico saturado que tiene de 3 a 6 átomos de carbono, tal como ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y ciclohexilo.

Será evidente para el experto en la técnica que S(=O)<sub>2</sub> o SO<sub>2</sub> representa una entidad de sulfonilo.

Será evidente para el experto que CO o C(=O) representa una entidad de carbonilo.

Será evidente para el experto que un grupo tal como -CRR- representa



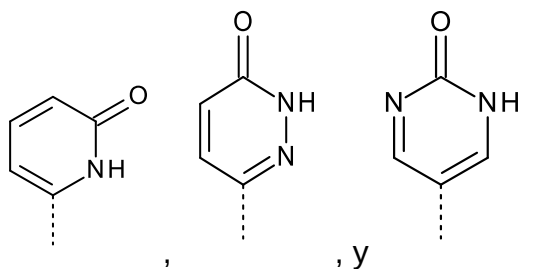
. Un ejemplo de dicho grupo es -CR<sup>5a</sup>R<sup>5b</sup> -.

Será evidente para el experto que un grupo tal como -NR- representa  $\begin{array}{c} \text{R} \\ | \\ -\text{N}- \end{array}$ . Un ejemplo de tal grupo es un -NR<sup>5c</sup>.

Los ejemplos no limitantes de ‘anillos aromáticos de 5 o 6 miembros que contienen uno, dos o tres átomos de nitrógeno y opcionalmente una entidad carbonilo’ incluyen, pero no se limitan a, pirazolilo, imidazolilo, piridinilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo, triazinilo o 1,2-dihidro-2-oxo-4-piridinilo.

El experto en la técnica comprenderá que un anillo aromático monocíclico de 5 o 6 miembros que contiene uno, dos o tres átomos de nitrógeno y una entidad carbonilo incluye, pero no se limita a

10



Cuando cualquier variable se produce más de una vez en cualquier constituyente, cada definición es independiente.

15 Cuando cualquier variable se produce más de una vez en cualquier fórmula (p. ej., Fórmula (I)), cada definición es independiente.

Generalmente, siempre que el término ‘sustituido’ se usa en la presente invención, se refiere, a menos que se indique de cualquier otra manera o que esté claro en el contexto, a indicar que uno o más hidrógenos, particularmente de 1 a 4 hidrógenos, más particularmente

de 1 a 3 hidrógenos, preferentemente 1 o 2 hidrógenos, con mayor preferencia 1 hidrógeno, en el átomo o radical indicado en la expresión usando 'sustituido' se reemplazan con una selección del grupo indicado, siempre que no se exceda la valencia normal, y que la sustitución resulta en un compuesto químicamente estable, es decir, un compuesto que es  
5 suficientemente robusto para sobrevivir el aislamiento a un grado útil de pureza de una mezcla de reacción (aislamiento después de una reacción, p. ej., purificación por cromatografía en gel de sílice). En una modalidad particular, cuando el número de sustituyentes no se especifica explícitamente, el número de sustituyentes es uno.

Las combinaciones de sustituyentes y/o variables solo están permitidas si tales  
10 combinaciones resultan en compuestos químicamente estables. En este contexto, "compuesto estable" significa indicar un compuesto que es suficientemente robusto para sobrevivir el aislamiento a un grado útil de pureza de una mezcla de reacción (aislamiento después de una reacción, p. ej., purificación por cromatografía en gel de sílice).

El experto entenderá que el término 'opcionalmente sustituido' significa que el  
15 átomo o radical indicado en la expresión usando 'opcionalmente sustituido' puede o no puede estar sustituido (esto significa sustituido o no sustituido respectivamente).

Cuando dos o más sustituyentes están presentes en una entidad que pueden, cuando sea posible y a menos que se indique de cualquier otra manera o que esté claro en el contexto, reemplazar los hidrógenos del mismo átomo o pueden reemplazar  
20 átomos de hidrógeno en diferentes átomos en la entidad.

Dentro del contexto de esta invención 'saturado' significa 'completamente saturado', si no se especifica de cualquier otra manera.

A menos que se especifique de cualquier otra manera o esté claro a partir del contexto, los grupos de anillos aromáticos puede unirse al resto de la molécula de

Fórmula (I) a través de cualquier átomo de carbono del anillo (enlazado a C) disponible o átomo de nitrógeno (enlazado a N).

A menos que se especifique o aclare de cualquier otra manera a partir del contexto, los grupos de anillos aromáticos, pueden opcionalmente sustituirse, donde  
5 sea posible, en átomos de carbono y/o nitrógeno de acuerdo con las modalidades.

El término “que comprende”, como se usa en la presente descripción, abarca los términos “que consiste en” y “que consiste esencialmente en”; Todas las modalidades descritas en la presente descripción que utilizan el término “que comprende” también son aplicables para modalidades de la invención, en donde el término “que comprende”  
10 se limita a “que consiste en”. De la misma manera, todas las modalidades descritas en la presente descripción que utilizan el término “que comprende” también son aplicables para modalidades de la invención en donde el término “que comprende” se limita a “que consiste esencialmente en”.

El término “sujeto”, como se usa en la presente descripción, se refiere a un animal,  
15 preferentemente un mamífero (p. ej., gato, perro, primate o humano), con mayor preferencia, un humano, que es o ha sido objeto de tratamiento, observación o experimento.

El término “cantidad terapéuticamente efectiva”, como se usa en la presente descripción, significa aquella cantidad de compuesto activo o agente farmacéutico que provoca la respuesta biológica o medicinal en un sistema de tejido, animal o humano,  
20 buscada por un investigador, veterinario, doctor en medicina u otro especialista clínico, que incluye aliviar o revertir los síntomas de la enfermedad o trastorno tratado.

El término “composición” pretende abarcar un producto incluyendo los ingredientes especificados en las cantidades especificadas, así como cualquier

producto que resulte, directa o indirectamente de combinaciones de los ingredientes especificados en las cantidades especificadas.

Los términos “tratamiento” y “tratar”, como se usan en la presente descripción, pretenden referirse a todos los procesos en donde puede haber una ralentización, interrupción, detención o parada de la progresión de un trastorno o alivio de uno o más  
5 síntomas de éste, pero no necesariamente indica una eliminación total de todos los síntomas.

Como se usa en la presente descripción, cualquier fórmula química con enlaces que se muestran solo como líneas continuas y no como enlaces en cuña continuos o en cuña discontinuos, o que se indican de cualquier otra manera como que tienen una  
10 configuración particular (p. ej. *R*, *S*) aproximadamente uno o más átomos, contempla cada estereoisómero posible, o mezcla de dos o más estereoisómeros.

Anteriormente y de aquí en adelante, el término “compuesto(s) de la Fórmula (I)” pretende incluir los tautómeros de estos y las formas estereoisoméricas de estos.

Anteriormente y de aquí en adelante, el término “compuesto(s) de Fórmula (Z)”  
15 pretende incluir los tautómeros de estos y las formas estereoisoméricas de estos.

Los términos “estereoisómeros”, “formas estereoisoméricas” o “formas estereoquímicamente isoméricas” se usan indistintamente anteriormente o de aquí en adelante.

La invención incluye todos los estereoisómeros de los compuestos de la invención  
20 ya sea como un estereoisómero puro o como una mezcla de dos o más estereoisómeros.

Los enantiómeros son estereoisómeros que son imágenes especulares no superponibles entre sí. Una mezcla 1:1 de un par de enantiómeros es un racemato o mezcla racémica.

Los atropisómeros (o atropoisómeros) son estereoisómeros que tienen una configuración espacial particular, que resultan de una rotación restringida alrededor de un enlace simple, debido a un gran impedimento estérico. Todas las formas atropisoméricas de los compuestos de la Fórmula (I) pretenden incluirse dentro del  
5 alcance de la presente invención.

Los diastereómeros (o diastereoisómeros) son estereoisómeros que no son enantiómeros, es decir, no se relacionan como imágenes especulares. Si un compuesto contiene un enlace doble, los sustituyentes pueden estar en la configuración *E* o *Z*.

Los sustituyentes en radicales saturados cíclicos bivalentes o parcialmente saturados  
10 pueden tener ya sea la configuración *cis* o *trans*; por ejemplo, si un compuesto contiene un grupo cicloalquilo disustituido, los sustituyentes pueden estar en la configuración *cis* o *trans*.

Por lo tanto, la invención incluye enantiómeros, atropisómeros, diastereómeros, racematos, isómeros *E*, isómeros *Z*, isómeros *cis*, isómeros *trans* y mezclas de estos, siempre que sea químicamente posible.

15 El significado de todos esos términos, es decir, enantiómeros, atropisómeros, diastereómeros, racematos, isómeros *E*, isómeros *Z*, isómeros *cis*, isómeros *trans* y mezclas de estos son conocidos por el experto.

La configuración absoluta se especifica de acuerdo con el sistema Cahn-Ingold-Prelog. La configuración en un átomo asimétrico se especifica mediante ya sea *R* o *S*.  
20 Los estereoisómeros resueltos cuya configuración absoluta no se conoce pueden ser designados por (+) o (-) dependiendo de la dirección en la cual giran la luz polarizada plana. Por ejemplo, los enantiómeros resueltos cuya configuración absoluta no se conoce pueden ser designados por (+) o (-) dependiendo de la dirección en la cual giran la luz polarizada plana.

Cuando se identifica un estereoisómero específico, esto significa que dicho estereoisómero está sustancialmente libre, es decir, asociado con menos de 50 %, preferentemente menos de 20 %, con mayor preferencia menos de 10 %, aún con mayor preferencia menos de 5 %, particularmente menos de 2 % y con la máxima preferencia menos de 1 %, de los otros isómeros. Por lo tanto, cuando un compuesto de la Fórmula (I) se especifica, por ejemplo, como (*R*), esto significa que el compuesto está sustancialmente libre del isómero (*S*); cuando un compuesto de la Fórmula (I) se especifica, por ejemplo, como *E*, esto significa que el compuesto está sustancialmente libre del isómero *Z*; cuando un compuesto de la Fórmula (I) se especifica, por ejemplo, como *cis*, esto significa que el compuesto está sustancialmente libre del isómero *trans*.

Algunos de los compuestos de acuerdo con la Fórmula (I) también pueden existir en su forma tautomérica. Tales formas en la medida en que puedan existir, aunque no se indiquen explícitamente en la Fórmula (I) anterior, se pretenden incluir dentro del alcance de la presente invención. Se deduce que un único compuesto puede existir tanto en forma estereoisomérica como tautomérica.

Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen sales de adición ácida y sales de adición básica. Tales sales pueden formarse mediante medios convencionales, por ejemplo, mediante la reacción de un ácido libre o una forma de base libre con uno o más equivalentes de una base o ácido adecuada, opcionalmente en un disolvente, o en un medio en el cual la sal es insoluble, seguido por la eliminación de dicho solvente, o de dicho medio, usando técnicas estándar (p. ej., *al vacío*, por liofilización o por filtración). Las sales también pueden prepararse mediante el intercambio de un contraión de un compuesto de la invención en forma de una sal con otro contraión, por ejemplo usando una resina de intercambio de iones adecuado.

Las sales farmacéuticamente aceptables como se mencionó anteriormente o de aquí en adelante pretenden comprender las formas de sal de base y de ácido no tóxicas terapéuticamente activas que los compuestos de la Fórmula (I), y solvatos de estos, son capaces de formar.

5 Los ácidos apropiados comprenden, por ejemplo, ácidos inorgánicos tales como ácidos hidrohálicos, p. ej., ácido clorhídrico o bromhídrico, ácido sulfúrico, nítrico, fosfórico y lo similar; o ácidos orgánicos, tales como, por ejemplo, ácidos acético, propanoico, hidroxiacético, láctico, pirúvico, oxálico, (es decir, etanedioico), malónico, succínico, (es  
10 decir, ácido butanedioico), maleico, fumárico, málico, tartárico, cítrico, metanosulfónico, etanosulfónico, bencenosulfónico, p-toluenosulfónico, ciclámico, salicílico, p-aminosalicílico, pamoico y lo similar. Por el contrario, dichas formas de sal pueden convertirse mediante tratamiento con una base adecuada en la forma de base libre.

Los compuestos de la Fórmula (I) y solvatos de estos que contiene un protón  
15 ácido también puede convertirse en sus formas de metal no tóxicas o sal de amina mediante tratamiento con bases orgánicas e inorgánicas adecuadas.

Las formas de sales básicas adecuadas comprenden, por ejemplo, las sales de amonio, las sales de metales alcalinos y alcalinotérreos, p. ej., sales de litio, sodio, potasio, cesio, magnesio, calcio y lo similar, sales con bases orgánicas, p. ej., aminas alifáticas y aromáticas primarias, secundarias y terciarias, tales como metilamina,  
20 etilamina, propilamina, isopropilamina, los cuatro isómeros de butilamina, dimetilamina, dietilamina, dietanolamina, dipropilamina, diisopropilamina, di-n-butilamina, pirrolidina, piperidina, morfolina, trimetilamina, trietilamina, tripropilamina, quinuclidina, piridina, quinolina e isoquinolina; la benzatina, N-metil-D-glucamina, sales de hidrabamina, y sales

con aminoácidos tales como, por ejemplo, arginina, lisina y lo similar. Por el contrario, la forma de sal puede convertirse mediante tratamiento con ácido en la forma de ácido libre.

El término “profármaco” incluye cualquier compuesto que, después de la administración oral o parenteral, en particular la administración oral, se metaboliza *in vivo* a una forma (más) activa en una cantidad detectable experimentalmente, y dentro de un tiempo predeterminado (p. ej., dentro de un intervalo de dosificación de entre 0,5 y 24 horas, o p. ej., dentro de un intervalo de dosificación de entre 6 y 24 horas (es decir, una vez a cuatro veces al día). Para evitar dudas, el término administración “parenteral” incluye todas las formas de administración diferentes a la administración oral, en particular la inyección intravenosa (IV, por sus siglas en inglés), intramuscular (IM, por sus siglas en inglés), y subcutánea(SC, por sus siglas en inglés).

Los profármacos pueden prepararse al modificar los grupos funcionales presentes en el compuesto de tal manera que las modificaciones se escindan, *in vivo* cuando tal profármaco se administra a un sujeto mamífero. Las modificaciones se logran, típicamente, mediante la síntesis del compuesto original con un sustituyente del profármaco. En general, los profármacos incluyen compuestos en donde un grupo hidroxilo, amino, sulfhidrilo, carboxi o carbonilo está unido a cualquier grupo que puede escindirse *in vivo* para regenerar el grupo hidroxilo, amino, sulfhidrilo, carboxi o carbonilo libre, respectivamente.

Los ejemplos de profármacos incluyen, pero no se limitan a, ésteres y carbamatos de grupos funcionales hidroxilo, grupos ésteres de grupos funcionales carboxilo, derivados de N-acilo y bases de N-Mannich. La información general sobre profármacos puede encontrarse p. ej., en Bundegaard, H. “Design of Prodrugs” p. I-92, Elsevier, New York-Oxford (1985).

El término solvato comprende las formas de adición de solvente, así como las sales de estos, que los compuestos de la Fórmula (I) son capaces de formar. Los ejemplos de tales formas de adición de solventes son, p. ej., hidratos, alcoholatos y lo similar.

Los compuestos de la invención como se preparan en los procesos descritos más abajo pueden sintetizarse en forma de mezclas de enantiómeros, particularmente mezclas racémicas de enantiómeros, que pueden separarse entre sí que siguen procedimientos de resolución conocidos en la técnica. Una manera de separar las formas enantioméricas de los compuestos de la Fórmula (I), y sales farmacéuticamente aceptables, y solvatos de estos, implica cromatografía líquida usando una fase estacionaria quiral. Dichas formas estereoquímicamente isoméricas puras también pueden derivarse de las formas estereoquímicamente isoméricas puras correspondientes de los materiales de partida adecuados, siempre que la reacción se produzca estereoespecíficamente. Preferentemente, si se desea un estereoisómero específico, dicho compuesto se sintetizaría mediante métodos estereoespecíficos de preparación. Estos métodos usarán ventajosamente materiales de partida enantioméricamente puros.

El término “enantioméricamente puro” como se usa en la presente descripción significa que el producto contiene al menos 80 % en peso de un enantiómero y 20 % en peso o menos del otro enantiómero. Preferentemente, el producto contiene al menos 90 % en peso de un enantiómero y 10 % en peso o menos del otro enantiómero. En la modalidad más preferida, el término “enantioméricamente puro” significa que la composición contiene al menos 99 % en peso de un enantiómero y 1 % o menos del otro enantiómero.

La presente invención también comprende compuestos marcados isotópicamente que son idénticos a los mencionados en la presente descripción, pero por el hecho de que uno o más átomos se reemplazan por un átomo que tiene una masa

atómica o número de masa diferente de la masa atómica o número de masa que se encuentra usualmente en la naturaleza (o la más abundante en la naturaleza).

Todos los isótopos y mezclas isotópicas de cualquier átomo o elemento particular como se especifica en la presente descripción se contemplan dentro del alcance de la invención, ya sea que ocurren naturalmente o se producen sintéticamente, ya sea con abundancia natural o en una forma enriquecida isotópicamente. Los isótopos ilustrativos que pueden incorporarse en los compuestos de la invención incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, azufre, flúor, cloro y yodo, tales como  $^2\text{H}$ ,  $^3\text{H}$ ,  $^{11}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{13}\text{N}$ ,  $^{15}\text{O}$ ,  $^{17}\text{O}$ ,  $^{18}\text{O}$ ,  $^{32}\text{P}$ ,  $^{33}\text{P}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{18}\text{F}$ ,  $^{36}\text{Cl}$ ,  $^{122}\text{I}$ ,  $^{123}\text{I}$ ,  $^{125}\text{I}$ ,  $^{131}\text{I}$ ,  $^{75}\text{Br}$ ,  $^{76}\text{Br}$ ,  $^{77}\text{Br}$  y  $^{82}\text{Br}$ . Preferentemente, el isótopo se selecciona del grupo de  $^2\text{H}$ ,  $^3\text{H}$ ,  $^{11}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$  y  $^{18}\text{F}$ . Preferentemente, el isótopo se selecciona del grupo de  $^2\text{H}$ ,  $^3\text{H}$ ,  $^{11}\text{C}$  y  $^{18}\text{F}$ . Con mayor preferencia, el isótopo es  $^2\text{H}$ ,  $^3\text{H}$  o  $^{13}\text{C}$ . Con mayor preferencia, el isótopo es  $^2\text{H}$  o  $^{13}\text{C}$ . Con mayor preferencia, el isótopo es  $^2\text{H}$ . En particular, los compuestos deuterados y compuestos enriquecidos con  $^{13}\text{C}$  pretenden incluirse dentro del alcance de la presente invención. Particularmente, los compuestos deuterados pretenden incluirse dentro del alcance de la presente invención.

Ciertos compuestos etiquetados isotópicamente (p. ej., los etiquetados con  $^3\text{H}$  y  $^{14}\text{C}$ ) pueden ser útiles, por ejemplo, en ensayos de distribución de tejido del sustrato. Los isótopos ( $^3\text{H}$ ) y carbono-14 ( $^{14}\text{C}$ ) tritiados son útiles por su facilidad de preparación y detección. Además, la sustitución por isótopos más pesados tales como el deuterio (es decir,  $^2\text{H}$ ) puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas que resultan de una mayor estabilidad metabólica (p. ej., requisitos de vida media in vivo aumentada o de dosificación reducida) y, por tanto, puede preferirse en algunas circunstancias. Los isótopos emisores de positrones tales como  $^{15}\text{O}$ ,  $^{13}\text{N}$ ,  $^{11}\text{C}$  y  $^{18}\text{F}$  son útiles para estudios de tomografía por

emisión de positrones (PET, por sus siglas en inglés). La captura de imágenes de PET en el cáncer encuentra utilidad en ayudar a ubicar e identificar tumores, etapa de la enfermedad y determinar el tratamiento adecuado. Las células cancerosas humanas sobreexpresan muchos receptores o proteínas que son objetivos moleculares específicos de la enfermedad potencial. Los trazadores radiomarcados que se unen con alta afinidad y especificidad a tales receptores o proteínas en las células tumorales tienen gran potencial para la formación de imágenes de diagnóstico y la terapia dirigida con radionúclidos (Charron, Carlie L. et al. Tetrahedron Lett. 2016, 57(37), 4119-4127). Adicionalmente, los radiotrazadores de PET específicos de diana pueden usarse como biomarcadores para examinar y evaluar la patología, por ejemplo, al medir la expresión diana y la respuesta al tratamiento (Austin R. et al. Cancer Letters (2016), doi: 10.1016/j.canlet.2016.05.008).

Las formas sólidas de dosificación oral, tales como tabletas o cápsulas, que contienen uno o más compuestos descritos en la presente descripción pueden administrarse en al menos una forma de dosificación a la vez, según sea apropiado. Además, es posible administrar los compuestos en formulaciones de liberación sostenida.

Las formas orales adicionales en las cuales los compuestos descritos en la presente descripción pueden administrarse incluyen elixires, soluciones, jarabes y suspensiones; cada una puede contener, opcionalmente, agentes aromatizantes y agentes colorantes.

Alternativamente, uno o más compuestos descritos en la presente descripción pueden administrarse mediante inhalación (intratraqueal o intranasal) o en la forma de un supositorio o pesario, o pueden ser de aplicación tópica en forma de una loción, solución, crema, ungüento o polvos de talco. Por ejemplo, pueden incorporarse en una crema que comprende, consiste en, y/o consiste esencialmente en, una emulsión acuosa de polietilenglicoles o parafina líquida. También se pueden incorporar, a una

concentración de entre aproximadamente 1 % y aproximadamente 10 % en peso de la crema, en un ungüento que comprende, consiste en, y/o consiste esencialmente en una cera o base de parafina blanda, junto con cualquier estabilizador y conservante según se requiera. Una forma alternativa de administración incluye la administración  
5 transdérmica usando un parche transdérmico o de piel.

Las composiciones farmacéuticas usadas en los métodos de la presente invención (así como los compuestos solos) también se pueden inyectar por vía parenteral, por ejemplo, por vía intracavernosa, intravenosa, intramuscular, subcutánea, intradérmica, o intratecal. En este caso, las composiciones incluirán, además, al menos  
10 uno de un portador adecuado, un excipiente adecuado y un diluyente adecuado.

Para la administración por vía parenteral, las composiciones farmacéuticas de la presente invención se usan mejor en forma de una solución acuosa estéril que puede contener otras sustancias, por ejemplo, suficiente sales y monosacáridos para hacer la solución isotónica con la sangre.

15 Para la administración bucal o sublingual, las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden administrarse en forma de tabletas o pastillas, las cuales pueden ser formuladas de una manera convencional.

A manera de ejemplo adicional, las composiciones farmacéuticas que contienen un compuesto de la Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este,  
20 y al menos un otro agente terapéutico como un principio activo se pueden preparar al mezclar el(los) compuesto(s) con un portador farmacéuticamente aceptable, un diluyente farmacéuticamente aceptable y/o un excipiente farmacéuticamente aceptable de acuerdo con las técnicas convencionales de composición farmacéutica. El transportador, excipiente y diluyente pueden tomar una amplia variedad de formas en dependencia de la ruta de

administración deseada (por ejemplo, oral, parenteral, etc.). Por lo tanto, para preparaciones orales líquidas, tales como suspensiones, elixires y soluciones, los portadores, excipientes y diluyentes adecuados incluyen agua, glicoles, aceites, alcoholes, agentes saborizantes, conservantes, estabilizantes, agentes colorantes y lo similar; para las preparaciones orales sólidas tales como polvos, cápsulas y tabletas, los portadores, diluyentes y excipientes adecuados incluyen almidones, azúcares, diluyentes, agentes de granulación, lubricantes, aglutinantes, agentes desintegración y lo similar. Las preparaciones orales sólidas pueden recubrirse, además, opcionalmente, con sustancias, tales como, azúcares o recubrirse, entéricamente, para modular el sitio principal de absorción y desintegración. Para la administración por vía parenteral, el portador, excipiente y disolvente incluirá, usualmente, agua estéril y pueden añadirse otros ingredientes para incrementar la solubilidad y la preservación de la composición. Las suspensiones o soluciones inyectables también pueden prepararse usando portadores acuosos junto con aditivos adecuados, tales como solubilizantes y conservantes.

De acuerdo con modalidades particulares, los métodos que usan una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico, pueden comprender un rango de dosis de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 3000 mg, o cualquier cantidad o rango particular en este, en particular de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 1000 mg, o cualquier cantidad o rango particular en este, de ingrediente activo en un régimen de aproximadamente 1 a aproximadamente (4 veces) por día para un humano promedio (70 kg); sin embargo, resulta evidente para un experto en la técnica que la cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la Fórmula (I), o una sal o un

solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico, variará según las enfermedades, síndromes, afecciones y trastornos que se traten.

Una modalidad de la presente invención se dirige a métodos de uso de composiciones farmacéuticas para administración oral, que comprenden un compuesto de Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este en una cantidad de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 500 mg. Ventajosamente, un compuesto de Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este puede administrarse en una única dosis diaria, o la dosificación diaria total puede administrarse en dosis divididas de dos, tres y (4x) diariamente.

Las dosis óptimas de un compuesto de la Fórmula (I) o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este que se administrarán pueden ser fácilmente determinadas y variarán según el compuesto particular usado, el modo de administración, la concentración de la preparación y el avance del trastorno hematopoyético. Además, los factores asociados con el sujeto particular que se va a tratar, que incluyen: género, edad, peso, dieta y tiempo de administración, resultará en la necesidad de ajustar la dosis para alcanzar un nivel terapéutico adecuado y el efecto terapéutico deseado. Por lo tanto, las dosificaciones anteriores ilustran el caso promedio. Pueden existir, por supuesto, casos individuales en donde se ameritan rangos de dosificaciones mayores o menores y estos se encuentran dentro del alcance de la presente invención.

Los compuestos de Fórmula (I) o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este pueden administrarse en cualquiera de las composiciones y regímenes de dosificación anteriores o por medio de aquellas composiciones y regímenes de dosificación establecidos en la técnica cada vez que se administra el uso

de un compuesto de Fórmula (I) o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este para un sujeto que necesita de este.

Una modalidad de la presente invención se dirige a métodos de uso de composiciones farmacéuticas para administración intravenosa o subcutánea, que  
5 comprenden un agente terapéutico en una cantidad de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 500 mg. Ventajosamente, el agente terapéutico se puede administrar en una dosis única diaria, o la dosificación diaria total se puede administrar en dosis divididas de dos, tres y (4 veces) diariamente.

Las dosificaciones óptimas del agente terapéutico a administrar se pueden determinar  
10 fácilmente y variarán con el compuesto particular usado, el modo de administración, la resistencia de la preparación y el avance de la enfermedad, síndrome, afección o trastorno. Además, los factores asociados con el sujeto particular que se va a tratar, que incluyen: género, edad, peso, dieta y tiempo de administración, resultará en la necesidad de ajustar la dosis para alcanzar un nivel terapéutico adecuado y el efecto terapéutico deseado. Por lo  
15 tanto, las dosificaciones anteriores ilustran el caso promedio. Pueden existir, por supuesto, casos individuales en donde se ameritan rangos de dosificaciones mayores o menores y estos se encuentran dentro del alcance de la presente invención.

El agente terapéutico se puede administrar en cualquiera de las composiciones y regímenes de dosificación anteriores o por medio de aquellas composiciones y  
20 regímenes de dosificación establecidos en la técnica siempre que se use un terapéutico y se administre a un sujeto que necesite de este.

Como se usa en la presente descripción, el término “inhibidor de menina-MLL” se refiere a un inhibidor de la interacción proteína-proteína entre menina y leucemia de linaje mixto 1 (MLL1) (también conocido como proteína N-metiltransferasa 2A (KMT2A) de histona-

lisina en el campo científico (Acceso UniProt núm. Q03164)) que inhibe o reduce la actividad de menina-MLL 1. Los inhibidores de menina-MLL descritos en la presente descripción se describen en PCT/CN2020/137266 (que fue publicada como WO2021/121327 el 24 de junio de 2021), que se incorpora en la presente descripción como referencia en su totalidad, y que  
5 también describe esquemas sintéticos y caracterizaciones analíticas correspondientes.

Como se usa en la presente descripción, el término “agente terapéutico” se refiere a cualquier agente que trata el cáncer. En el contexto de esta solicitud, en algunas modalidades, los agentes terapéuticos se limitan a los agentes terapéuticos explícitamente enumerados en la presente descripción.

10 Como se usa en la presente descripción, el término “agente hipometilante” se refiere a un agente que inhibe o reduce la metilación del ADN.

Como se usa en la presente descripción, el término “inhibidor de la citidina deaminasa” se refiere a un agente que inhibe o reduce la actividad de la citidina deaminasa.

Como se usa en la presente descripción, el término “inhibidor de quinasa” se  
15 refiere a un agente que inhibe o reduce la actividad de al menos una quinasa (p. ej., tirosina y/o serina quinasas tales como tirosina quinasa del receptor tipo fms-3 (FLT3), tirosina quinasa Bruton (BTK, por sus siglas en inglés), una tirosina quinasa Abelson 1 (ABL, por sus siglas en inglés), una serina/tirosina quinasa Aurora).

Como se usa en la presente descripción, el término “inhibidor de FLT-3” se  
20 refiere a inhibidores de la tirosina quinasa (TKI) clasificados en inhibidores de primera y siguiente generación basados en su potencia y especificidad para la tirosina quinasa del receptor tipo fms-3 (FLT3) y sus dianas corriente abajo asociadas.

Como se usa en la presente descripción, el término “inhibidor de CD20” se refiere a cualquier agente que reduce la actividad de CD20.

Como se usa en la presente descripción, el término “inhibidor de isocitrato deshidrogenasa (IDH, por sus siglas en inglés)” se refiere a cualquier agente que interfiere con la conversión de isocitrato en  $\alpha$ -cetoglutarato ( $\alpha$ -KG, por sus siglas en inglés) en el ciclo de ácido tricarboxílico (TCA, por sus siglas en inglés).

5            Como se usa en la presente descripción, el término “agente inmunomodulador” se refiere a cualquier agente que estimula o suprime el sistema inmunitario (p. ej., mediante modulación de citocinas, coestimulación de células T, regulación a la baja de moléculas coinhibidoras, mejora de la actividad de las células asesinas naturales, inhibición de células T reguladoras y reparación de la formación de sinapsis alterada en  
10 células T). En modalidades particulares, los agentes inmunomoduladores, tales como anticuerpos monoclonales, citocinas y vacunas, afectan las partes específicas del sistema inmunitario. En otras modalidades, los agentes inmunomoduladores, tales como Bacillus Calmette–Guérin (BCG, por sus siglas en inglés) y levamisol, afectan el sistema inmunitario de una manera general.

15            Como se usa en la presente descripción, el término “inhibidor de la proteína de muerte celular programada 1 (PD-1, por sus siglas en inglés)” se refiere a cualquier agente que inhibe o reduce la actividad de PD-1.

              Como se usa en la presente descripción, el término “inhibidor de la dihidroorotato deshidrogenasa (DHODH, por sus siglas en inglés)” se refiere a cualquier agente que  
20 inhibe o reduce la actividad de la dihidroorotato deshidrogenasa.

              Como se usa en la presente descripción, a menos que se indique de cualquier otra manera, el término “afectar” o “afectado” (cuando se hace referencia a una enfermedad, trastorno o afección médica que es afectado por la inhibición o alteración de la actividad de menina-MLL) incluye una reducción en la frecuencia y/o severidad de

uno o más síntomas o manifestaciones de dicho trastorno hematopoyético y/o incluye la prevención del desarrollo de uno o más síntomas o manifestaciones de dicho trastorno hematopoyético o el desarrollo del trastorno hematopoyético.

Como se usa en la presente descripción, el término “trastorno hematopoyético”  
5 se refiere a cualquier trastorno asociado con la producción de los componentes celulares de sangre y plasma sanguíneo, incluidos, entre otros, cánceres de sangre.

De acuerdo con una modalidad, la invención proporciona combinaciones como se describe en la presente descripción.

De acuerdo con una modalidad, la invención proporciona combinaciones como  
10 se describe en la presente descripción para su uso como un medicamento.

De acuerdo con una modalidad, la invención proporciona combinaciones como se describe en la presente descripción para la fabricación de un medicamento.

De acuerdo con una modalidad, la invención proporciona combinaciones como se describe en la presente descripción para la fabricación de un medicamento para el  
15 tratamiento o prevención de una cualquiera de las condiciones de la enfermedad mencionadas en la presente descripción.

De acuerdo con una modalidad, la invención proporciona combinaciones como se describe en la presente descripción para uso en la prevención o el tratamiento, en particular, el tratamiento de enfermedades como se describe en la presente descripción.

20 De acuerdo con una modalidad, la invención proporciona combinaciones como las descritas en la presente descripción para usar en la prevención o el tratamiento, en particular el tratamiento, del cáncer.

De acuerdo con una modalidad, la invención proporciona combinaciones como las descritas en la presente descripción para usar en la prevención o el tratamiento, en

particular el tratamiento, de un cáncer, que incluye, pero no se limita a, tumores sólidos, sarcomas y trastornos hematopoyéticos.

De acuerdo con una modalidad, el cáncer se selecciona de, pero no se limita a, cáncer de mama, carcinoma colorrectal, cáncer gástrico, glioma, cáncer de cabeza y cuello, carcinoma hepatocelular, cáncer de pulmón, mieloma múltiple, neuroblastoma, cáncer de ovario, cáncer de páncreas, cáncer de próstata, carcinoma de células renales y sarcoma.

De acuerdo con una modalidad, el sarcoma se selecciona de, pero no se limita a, sarcoma del tejido blando, glioma, osteosarcoma, histiocitoma fibroso maligno, linfoma y rabdomiosarcoma.

De acuerdo con una modalidad, la invención proporciona combinaciones como se describe en la presente descripción para usar en la prevención o tratamiento, en particular el tratamiento, de un trastorno hematopoyético, que incluye, pero no se limita a, cánceres de sangre, que incluyen, pero no se limitan a, linfomas, mielomas y leucemias.

De acuerdo con una modalidad, la invención proporciona combinaciones como se describe en la presente descripción para usar en la prevención o tratamiento, en particular el tratamiento de un trastorno hematopoyético.

De acuerdo con una modalidad, el trastorno hematopoyético se selecciona de, pero no se limita a, linfomas, mielomas, mielodisplasia y leucemias.

De acuerdo con una modalidad, el trastorno hematopoyético es un linfoma seleccionado entre los linfomas de la enfermedad de Hodgkin y los linfomas no Hodgkin.

De acuerdo con una modalidad, el linfoma es una enfermedad no Hodgkin que es linfoma de Burkitt, linfoma anaplásico de células grandes, linfoma esplénico de zona marginal, linfoma hepatoesplénico de células T o linfoma angioinmunoblástico de células T (AITL).

De acuerdo con una modalidad, el trastorno hematopoyético es un mieloma. De acuerdo con una modalidad, el trastorno hematopoyético es un mieloma múltiple, macroglobulinemia de Waldenström o plasmacitoma.

De acuerdo con una modalidad, el trastorno hematopoyético es una  
5 mielodisplasia que incluye, pero no se limita a, síndrome mielodisplásico (MDS).

De acuerdo con una modalidad, el trastorno hematopoyético es una leucemia.

De acuerdo con una modalidad, el trastorno hematopoyético es una leucemia seleccionada de leucemias agudas y leucemias crónicas. De acuerdo con una modalidad, la leucemia es una leucemia aguda. De acuerdo con una modalidad, la  
10 leucemia es leucemia crónica.

De acuerdo con una modalidad, el trastorno hematopoyético es una leucemia mieloide, leucemia mielógena, leucemia linfoblástica, o leucemia linfocítica. De acuerdo con una modalidad, el trastorno hematopoyético es una leucemia seleccionada de, pero no se limita a, leucemia linfocítica aguda (ALL), leucemia linfocítica crónica (CLL),  
15 leucemia linfocítica pequeña (SLL), leucemia mieloide aguda (AML), mielofibrosis idiopática crónica (MF), leucemia mielógena crónica (CML), leucemia prolinfocítica de célula T (T-PLL), leucemia prolinfocítica de linfocitos B (HCL), leucemia neutrofílica crónica (CNL), leucemia de célula pilosa (HCL), leucemia de linfocitos granulares grandes de células T (T-LGL) y leucemia de célula NK agresiva. De acuerdo con una  
20 modalidad, la AML es leucemia megacarioblástica aguda (AMKL).

De acuerdo con una modalidad, la leucemia es MDS, CLL, SLL, ALL o AML. De acuerdo con una modalidad, la leucemia es CLL, SLL o AML. De acuerdo con una modalidad, la leucemia es CLL o SLL. En algunas modalidades, la CLL o SLL es un cáncer que expresa CD20. De acuerdo con una modalidad, la leucemia es ALL o AML.

De acuerdo con una modalidad, la leucemia es ALL. De acuerdo con una modalidad, la leucemia es AML. De acuerdo con una modalidad, el trastorno hematopoyético es macroglobulinemia de Waldenström.

De acuerdo con una modalidad, el trastorno hematopoyético es una leucemia  
5 redispuesta en MLL, una leucemia de duplicación en tándem de MLL parcial (PTD), leucemia amplificada de MLL, leucemia positiva de MLL o leucemia que exhibe firmas de expresión génica elevadas de HOX/MEIS1.

De acuerdo con una modalidad, la leucemia es una leucemia con reordenamiento de MLL y/o una leucemia con mutación de nucleofosmina 1 (NPM1, por sus siglas en inglés).

10 De acuerdo con una modalidad, el trastorno hematopoyético es una leucemia con reordenamiento de MLL.

De acuerdo con una modalidad, el trastorno hematopoyético es una leucemia mutada de nucleofosmina 1 (NPM1) (p. ej., NPM1c).

De acuerdo con una modalidad, la invención proporciona métodos para el  
15 tratamiento de un trastorno hematopoyético que es síndrome mielodisplásico (MDS), una neoplasia mieloproliferativa (MPN, por sus siglas en inglés), leucemia linfocítica aguda (ALL) leucemia mieloide aguda (AML), un linfoma linfocítico pequeño (SLL) o leucemia linfocítica crónica (CLL), que comprende administrar a un sujeto que necesite de este una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la Fórmula (I) o una sal o un  
20 solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es un agente hipometilante, un inhibidor de la citidina desaminasa, un agente intercalante del ADN, un análogo de pirimidina, un análogo de purina, un inhibidor de quinasa, un inhibidor de CD20, un inhibidor de IDH, un agente inmunomodulador o un inhibidor de DHODH.

De acuerdo con una modalidad, el trastorno hematopoyético es el síndrome mielodisplásico (MDS) o una neoplasia mieloproliferativa (MPN).

De acuerdo con una modalidad, el trastorno hematopoyético es leucemia linfocítica aguda (ALL).

5 De acuerdo con una modalidad, el trastorno hematopoyético es leucemia mieloide aguda (AML).

De acuerdo con una modalidad, el trastorno hematopoyético es un linfoma linfocítico pequeño (SLL) o leucemia linfocítica crónica (CLL).

De acuerdo con una modalidad, el trastorno hematopoyético es una SLL o CLL  
10 donde SLL o CLL es un cáncer que expresa CD20.

De acuerdo con una modalidad, el trastorno hematopoyético es el síndrome mielodisplásico (MDS).

De acuerdo con una modalidad, el trastorno hematopoyético es una neoplasia mieloproliferativa (MPN).

15 De acuerdo con una modalidad, el trastorno hematopoyético es una leucemia mutada en NPM1 con una mutación FLT3.

De acuerdo con una modalidad, el trastorno hematopoyético es una leucemia dependiente de FLT3.

De acuerdo con una modalidad, el trastorno hematopoyético es una leucemia  
20 dependiente de MEF2G.

De acuerdo con una modalidad, el trastorno hematopoyético porta una o más reordenamientos génicos MLL1 (KMT2A) o alteraciones (p. ej., duplicaciones o amplificación) y/o mutaciones de NPM1.

De acuerdo con una modalidad, el trastorno hematopoyético porta (i) uno o más reordenamientos génicos MLL1 (KMT2A) o alteraciones (p. ej., duplicaciones o amplificación) y/o mutaciones de NPM1 más (ii) una mutación FLT3.

De acuerdo con una modalidad, el trastorno hematopoyético es una leucemia  
5 redispuesta de MLL.

De acuerdo con una modalidad, el trastorno hematopoyético es leucemia mieloide aguda (AML).

De acuerdo con una modalidad, el trastorno hematopoyético es un linfoma linfocítico pequeño (SLL).

10 De acuerdo con una modalidad, el trastorno hematopoyético es una leucemia linfocítica crónica (CLL).

De acuerdo con una modalidad, el trastorno hematopoyético es una leucemia aguda, leucemia crónica, leucemia mieloide, leucemia mielógena, leucemia linfoblástica, leucemia linfocítica, leucemia mielógena aguda (AML), leucemia mielógena crónica (CML), leucemia  
15 linfoblástica aguda (ALL), leucemia linfocítica crónica (CLL), leucemias prolinfocíticas de linfocitos T (T-PLL), leucemia linfocítica granular grande, leucemia de células pilosas (HCL), leucemia redispuesta en MLL, leucemia MLL-PTD, leucemia amplificada de MLL, leucemia positiva a MLL o leucemia que exhibe rúbricas de expresión génica de *HOX/MEIS1* elevadas.

De acuerdo con una modalidad, el trastorno hematopoyético es AML, en  
20 particular AML mutada en nucleofosmina (NPM1) (es decir, AML NPM1<sup>mut</sup>), más en particular la AML mutada en NPM1 resumida.

De acuerdo con una modalidad, el trastorno hematopoyético es una leucemia redispuesta en MLL, en particular la AML redispuesta en MLL o ALL.

De acuerdo con una modalidad, el trastorno hematopoyético incluye una alteración del gen de *MLL*, en particular el trastorno hematopoyético es AML o ALL con alteración(es) del gen *MLL*. En ciertas modalidades, la alteración del gen de *MLL* es una duplicación. En ciertas modalidades, la alteración del gen de *MLL* es una amplificación.

5 De acuerdo con una modalidad, el trastorno hematopoyético incluye una mutación génica de *NPM1* y/o mutación génica de *MLL1* (también conocida como *KMT2A*).

De acuerdo con una modalidad, las mutaciones génicas de *MLL1* incluyen, pero no se limitan a, reordenamientos, duplicaciones o amplificación de genes de *MLL1*.

De acuerdo con una modalidad, el trastorno hematopoyético es una leucemia de  
10 linaje mixto (*MLL*), leucemia relacionada con *MLL*, leucemia asociada a *MLL*, leucemia positiva de *MLL*, leucemia inducida por *MLL*, leucemia asociada con un *MLL*, leucemia aguda, leucemia crónica, síndrome mielodisplásico (*MDS*) o neoplasias mieloproliferativas (*MPN*).

Todas las modalidades descritas en la presente descripción para métodos de  
15 tratamiento de un trastorno son también aplicables para usar en el tratamiento de dicho trastorno.

Todas las modalidades descritas en la presente descripción para usar en el tratamiento de un trastorno son también aplicables a los métodos para tratar dicho trastorno.

Todas las modalidades descritas en la presente descripción para métodos de  
20 tratamiento de un trastorno son también aplicables para usar en un método para tratar dicho trastorno.

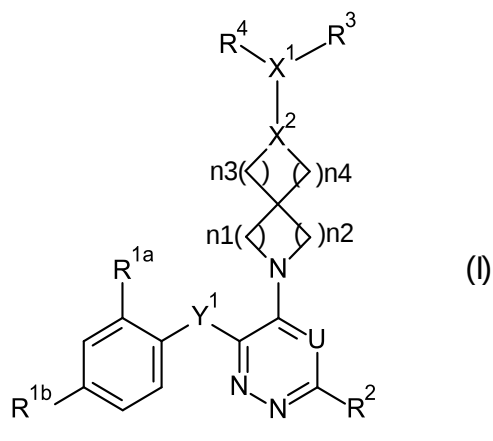
Todas las modalidades descritas en la presente descripción para usar en un método para tratar un trastorno son también aplicables a métodos para tratar dicho trastorno.

En una modalidad, la presente invención se relaciona con una combinación novedosa que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un inhibidor de la menina-MLL de la Fórmula (I), o un tautómero o una forma estereoisomérica de este, o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este; y una cantidad

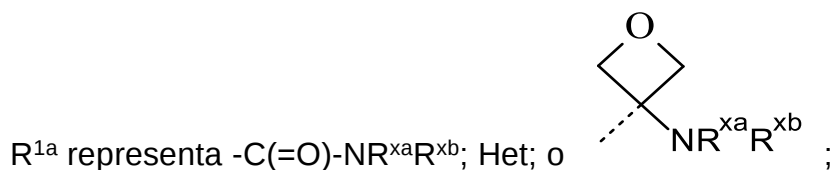
5 terapéuticamente efectiva de al menos un otro agente terapéutico que es un agente hipometilante, un inhibidor de citidina desaminasa, un agente intercalante del ADN, un análogo de pirimidina, un análogo de purina, un inhibidor de cinasa, un inhibidor de CD20, un inhibidor de IDH, un agente inmunomodulador o un inhibidor de DHODH.

De acuerdo con una modalidad, los compuestos de Fórmula (I) son inhibidores

10 de menina-MLL que tienen la estructura:



y los tautómeros y las formas estereoisoméricas de estos, en donde



Het representa un anillo aromático monocíclico de 5 o 6 miembros que contiene uno, dos o tres átomos de nitrógeno y opcionalmente una entidad carbonilo;

en donde dicho anillo aromático monocíclico de 5 o 6 miembros se sustituye opcionalmente con uno o dos sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en  
5 cicloalquilo C<sub>3-6</sub> y alquilo C<sub>1-4</sub>;

R<sup>xa</sup> y R<sup>xb</sup> se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C<sub>1-4</sub> y cicloalquilo C<sub>3-6</sub>;

R<sup>1b</sup> representa F o Cl;

Y<sup>1</sup> representa -CR<sup>5a</sup>R<sup>5b</sup>-, -O- o -NR<sup>5c</sup>-;

10 R<sup>2</sup> se selecciona del grupo que consiste en: hidrógeno, halo, alquilo C<sub>1-4</sub> y -O-alquilo C<sub>1-4</sub> y -NR<sup>7a</sup>R<sup>7b</sup>;

U representa N o CH;

n<sub>1</sub>, n<sub>2</sub>, n<sub>3</sub> y n<sub>4</sub> se seleccionan cada uno independientemente de 1 y 2;

X<sup>1</sup> representa CH, y X<sup>2</sup> representa N;

15 R<sup>4</sup> representa isopropilo;

R<sup>5a</sup>, R<sup>5b</sup>, R<sup>5c</sup>, R<sup>7a</sup>, y R<sup>7b</sup>, se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C<sub>1-4</sub> y cicloalquilo C<sub>3-6</sub>;

R<sup>3</sup> representa alquilo-C<sub>1-6</sub>-NR<sup>8a</sup>R<sup>8b</sup>, alquilo-C<sub>1-6</sub>-C(=O)-NR<sup>9a</sup>R<sup>9b</sup>, alquilo C<sub>1-6</sub>-OH, o alquilo-C<sub>1-6</sub>-NR<sup>11</sup>-C(=O)-O-alquilo C<sub>1-4</sub>-O-C(=O)-alquilo C<sub>1-4</sub>; en donde cada una de las  
20 entidades alquilo C<sub>1-4</sub> o alquilo C<sub>1-6</sub> en las definiciones R<sup>3</sup> independientemente entre sí pueden estar sustituidas con uno, dos o tres sustituyentes cada uno independientemente seleccionado del grupo que consiste en ciano, halo, -OH, y -O-alquilo C<sub>1-4</sub>;

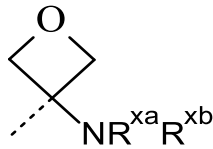
R<sup>8a</sup> y R<sup>8b</sup> se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno; alquilo C<sub>1-6</sub>; -C(O)-alquilo C<sub>1-4</sub>; -C(=O)-O-alquilo C<sub>1-4</sub>; -C(=O)-NR<sup>12a</sup>R<sup>12b</sup>;

y alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno independientemente seleccionado del grupo que consiste en -OH, ciano, halo, -S(=O)<sub>2</sub>-alquilo C<sub>1-4</sub>, -O-alquilo C<sub>1-4</sub>, -C(=O)-NR<sup>10a</sup>R<sup>10b</sup>, y -NR<sup>10c</sup>-C(=O)-alquilo C<sub>1-4</sub>; y

R<sup>9a</sup>, R<sup>9b</sup>, R<sup>10a</sup>, R<sup>10b</sup>, R<sup>10c</sup>, R<sup>11</sup>, R<sup>12a</sup>, y R<sup>12b</sup> se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo C<sub>1-6</sub>;

y las sales y los solvatos farmacéuticamente aceptables de estos.

De acuerdo con una modalidad, los compuestos de Fórmula (I) son como se definen en el presente documento, y los tautómeros y las formas estereoisoméricas de estos, en donde

R<sup>1a</sup> representa -C(=O)-NR<sup>xa</sup>R<sup>xb</sup>; Het; o  ;

Het representa un anillo aromático monocíclico de 5 o 6 miembros que contiene uno, dos o tres átomos de nitrógeno y opcionalmente una entidad carbonilo;

en donde dicho anillo aromático monocíclico de 5 o 6 miembros se sustituye opcionalmente con uno o dos sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en cicloalquilo C<sub>3-6</sub> y alquilo C<sub>1-4</sub>;

R<sup>xa</sup> y R<sup>xb</sup> se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C<sub>1-4</sub> y cicloalquilo C<sub>3-6</sub>;

R<sup>1b</sup> representa F o Cl;

Y<sup>1</sup> representa -CR<sup>5a</sup>R<sup>5b</sup>-, -O- o -NR<sup>5c</sup>-;

R<sup>2</sup> se selecciona del grupo que consiste en: hidrógeno, halo, alquilo C<sub>1-4</sub> y O-alquilo C<sub>1-4</sub> y -NR<sup>7a</sup>R<sup>7b</sup>;

U representa N o CH;

n1, n2, n3 y n4 se seleccionan cada uno independientemente de 1 y 2;

X<sup>1</sup> representa CH, y X<sup>2</sup> representa N;

R<sup>4</sup> representa isopropilo;

R<sup>5a</sup>, R<sup>5b</sup>, R<sup>5c</sup>, R<sup>7a</sup>, y R<sup>7b</sup>, se seleccionan cada uno independientemente del grupo

5 que consiste en hidrógeno, alquilo C<sub>1-4</sub> y cicloalquilo C<sub>3-6</sub>;

R<sup>3</sup> representa alquilo-C<sub>1-6</sub>-NR<sup>8a</sup>R<sup>8b</sup>, alquilo-C<sub>1-6</sub>-C(=O)-NR<sup>9a</sup>R<sup>9b</sup>, alquilo C<sub>1-6</sub>-OH, o alquilo-C<sub>1-6</sub>-NR<sup>11</sup>-C(=O)-O-alquilo C<sub>1-4</sub>-O-C(=O)-alquilo C<sub>1-4</sub>;

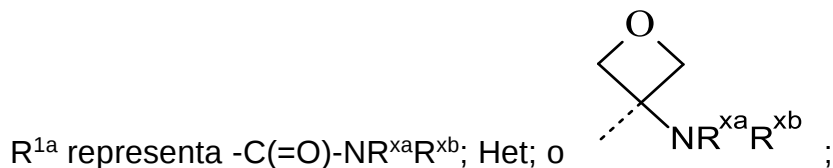
en donde cada una de las entidades alquilo C<sub>1-4</sub> o alquilo C<sub>1-6</sub> en las definiciones de R<sup>3</sup> independientemente entre sí pueden estar sustituidas con uno, dos o tres  
10 sustituyentes cada uno independientemente seleccionado del grupo que consiste en ciano, halo o -O-alquilo C<sub>1-4</sub>;

R<sup>8a</sup> y R<sup>8b</sup> se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno; alquilo C<sub>1-6</sub>; -C(O)-alquilo C<sub>1-4</sub>; -C(=O)-O-alquilo C<sub>1-4</sub>; -C(=O)-NR<sup>12a</sup>R<sup>12b</sup>; y alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno independientemente  
15 seleccionado del grupo que consiste en ciano, halo, -S(=O)<sub>2</sub>-alquilo C<sub>1-4</sub>, -O-alquilo C<sub>1-4</sub>, y -C(=O)-NR<sup>10a</sup>R<sup>10b</sup>; y

R<sup>9a</sup>, R<sup>9b</sup>, R<sup>10a</sup>, R<sup>10b</sup>, R<sup>11</sup>, R<sup>12a</sup>, y R<sup>12b</sup> se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo C<sub>1-6</sub>;

y las sales y los solvatos farmacéuticamente aceptables de estos.

20 De acuerdo con una modalidad, los compuestos de Fórmula (I) son como se definen en el presente documento, y los tautómeros y las formas estereoisoméricas de estos, en donde



Het representa un anillo aromático monocíclico de 5 o 6 miembros que contiene uno, dos o tres átomos de nitrógeno y opcionalmente una entidad carbonilo;

en donde dicho anillo aromático monocíclico de 5 o 6 miembros se sustituye  
5 opcionalmente con uno o dos sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en cicloalquilo  $C_{3-6}$  y alquilo  $C_{1-4}$ ;

$R^{xa}$  y  $R^{xb}$  se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo  $C_{1-4}$  y cicloalquilo  $C_{3-6}$ ;

$R^{1b}$  representa F o Cl;

10  $Y^1$  representa  $-CR^{5a}R^{5b}-$ ,  $-O-$  o  $-NR^{5c}-$ ;

$R^2$  se selecciona del grupo que consiste en: hidrógeno, halo, alquilo  $C_{1-4}$  y O-alquilo  $C_{1-4}$  y  $-NR^{7a}R^{7b}$ ;

U representa N o CH;

$n_1$ ,  $n_2$ ,  $n_3$  y  $n_4$  se seleccionan cada uno independientemente de 1 y 2;

15  $X^1$  representa CH, y  $X^2$  representa N;

$R^4$  representa isopropilo;

$R^{5a}$ ,  $R^{5b}$ ,  $R^{5c}$ ,  $R^{7a}$ , y  $R^{7b}$ , se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo  $C_{1-4}$  y cicloalquilo  $C_{3-6}$ ;

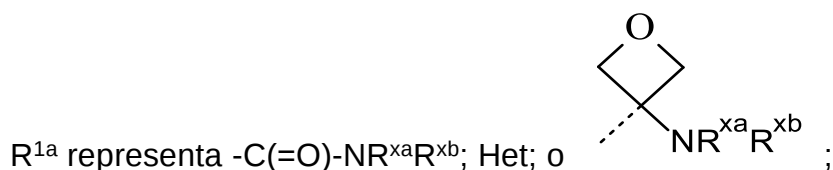
$R^3$  representa - alquilo  $C_{1-6}-NR^{8a}R^{8b}$ ; en donde la entidad alquilo  $C_{1-6}$  en la definición  
20 de  $R^3$  puede estar sustituida con uno, dos o tres sustituyentes cada uno independientemente seleccionado del grupo que consiste en ciano, halo, OH, y -O-alquilo  $C_{1-4}$ ;

$R^{8a}$  y  $R^{8b}$  se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno; alquilo  $C_{1-6}$ ; y alquilo  $C_{1-6}$  sustituido con uno, dos o tres sustituyentes, cada uno independientemente seleccionado del grupo que consiste en -OH, ciano, halo, -S(=O)<sub>2</sub>-alquilo  $C_{1-4}$ , -O-alquilo  $C_{1-4}$ , -C(=O)-NR<sup>10a</sup>R<sup>10b</sup>, y -NR<sup>10c</sup>-C(=O)-alquilo  $C_{1-4}$ ; y

5 cada  $R^{10a}$ ,  $R^{10b}$ ,  $R^{10c}$  se selecciona independientemente del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo  $C_{1-6}$ ;

y las sales y los solvatos farmacéuticamente aceptables de estos.

De acuerdo con una modalidad, los compuestos de Fórmula (I) son como se definen en el presente documento, y los tautómeros y las formas estereoisoméricas de  
10 estos, en donde



Het representa un anillo aromático monocíclico de 5 o 6 miembros que contiene uno, dos o tres átomos de nitrógeno y opcionalmente una entidad carbonilo;

en donde dicho anillo aromático monocíclico de 5 o 6 miembros se sustituye  
15 opcionalmente con uno o dos sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en cicloalquilo  $C_{3-6}$  y alquilo  $C_{1-4}$ ;

$R^{xa}$  y  $R^{xb}$  se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo  $C_{1-4}$  y cicloalquilo  $C_{3-6}$ ;

$R^{1b}$  representa F o Cl;

20  $Y^1$  representa -CR<sup>5a</sup>R<sup>5b</sup>-, -O- o -NR<sup>5c</sup>-;

$R^2$  se selecciona del grupo que consiste en: hidrógeno, halo, alquilo  $C_{1-4}$  y O-alquilo  $C_{1-4}$  y -NR<sup>7a</sup>R<sup>7b</sup>;

U representa N o CH;

n1, n2, n3 y n4 se seleccionan cada uno independientemente de 1 y 2;

X<sup>1</sup> representa CH, y X<sup>2</sup> representa N;

R<sup>4</sup> representa isopropilo;

5 R<sup>5a</sup>, R<sup>5b</sup>, R<sup>5c</sup>, R<sup>7a</sup>, y R<sup>7b</sup>, se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C<sub>1-4</sub> y cicloalquilo C<sub>3-6</sub>;

R<sup>3</sup> representa - alquilo C<sub>1-6</sub>-NR<sup>8a</sup>R<sup>8b</sup>; en donde la entidad alquilo C<sub>1-6</sub> en la definición R<sup>3</sup> puede estar sustituida con uno, dos o tres sustituyentes cada uno independientemente seleccionado del grupo que consiste en ciano, halo y -O-alquilo C<sub>1-4</sub>;

10 R<sup>8a</sup> y R<sup>8b</sup> se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno; alquilo C<sub>1-6</sub>; y alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno independientemente seleccionado del grupo que consiste en ciano, halo, -S(=O)<sub>2</sub>-alquilo C<sub>1-4</sub>, -O-alquilo C<sub>1-4</sub>, y-C(=O)-NR<sup>10a</sup>R<sup>10b</sup>; y

15 cada R<sup>10a</sup> y R<sup>10b</sup> se selecciona independientemente del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo C<sub>1-6</sub>;

y las sales y los solvatos farmacéuticamente aceptables de estos.

De acuerdo con una modalidad, los compuestos de Fórmula (I) son como se definen en el presente documento, y los tautómeros y las formas estereoisoméricas de estos, en donde

20 R<sup>1a</sup> representa-C(=O)-NR<sup>xa</sup>R<sup>xb</sup> o Het;

Het representa un anillo aromático monocíclico de 6 miembros que contiene dos átomos de nitrógeno; en donde dicho anillo aromático monocíclico de 6 miembros está sustituido con un cicloalquilo C<sub>3-6</sub>;

R<sup>xa</sup> y R<sup>xb</sup> representan alquilo C<sub>1-4</sub>;

$R^{1b}$  representa F;

$Y^1$  representa -O-;

$R^2$  representa hidrógeno;

U representa N o CH;

5  $n_1, n_2, n_3$  y  $n_4$  se seleccionan cada uno independientemente de 1 y 2;

$X^1$  representa CH, y  $X^2$  representa N;

$R^4$  representa isopropilo;

$R^3$  representa alquilo- $C_{1-6}$ - $NR^{8a}R^{8b}$ , alquilo- $C_{1-6}$ -C(=O)- $NR^{9a}R^{9b}$ , alquilo  $C_{1-6}$ -OH, o alquilo- $C_{1-6}$ - $NR^{11}$ -C(=O)-O-alquilo  $C_{1-4}$ -O-C(=O)-alquilo  $C_{1-4}$ ;

10 en donde cada una de las entidades alquilo  $C_{1-4}$  o alquilo  $C_{1-6}$  en las definiciones de  $R^3$  independientemente entre sí pueden estar sustituidas con uno, dos o tres sustituyentes cada uno independientemente seleccionado del grupo que consiste en -OH y -O-alquilo  $C_{1-4}$ ;

15  $R^{8a}$  y  $R^{8b}$  se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno; alquilo  $C_{1-6}$ ; -C(O)-alquilo  $C_{1-4}$ ; -C(=O)-O-alquilo  $C_{1-4}$ ; -C(=O)- $NR^{12a}R^{12b}$ ; y alquilo  $C_{1-6}$  sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno independientemente seleccionado del grupo que consiste en -OH, ciano, halo, -S(=O)<sub>2</sub>-alquilo  $C_{1-4}$ , -O-alquilo  $C_{1-4}$ , -C(=O)- $NR^{10a}R^{10b}$ , y - $NR^{10c}$ -C(=O)-alquilo  $C_{1-4}$ ; y

20  $R^{9a}$ ,  $R^{9b}$ ,  $R^{10a}$ ,  $R^{10b}$ ,  $R^{10c}$ ,  $R^{11}$ ,  $R^{12a}$ , y  $R^{12b}$  se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo  $C_{1-6}$ ;

y las sales y los solvatos farmacéuticamente aceptables de estos.

De acuerdo con una modalidad, los compuestos de Fórmula (I) son como se definen en el presente documento, y los tautómeros y las formas estereoisoméricas de estos, en donde

$R^{1a}$  representa  $-C(=O)-NR^{xa}R^{xb}$  o Het;

Het representa un anillo aromático monocíclico de 6 miembros que contiene dos átomos de nitrógeno; en donde dicho anillo aromático monocíclico de 6 miembros está sustituido con un cicloalquilo  $C_{3-6}$ ;

5  $R^{xa}$  y  $R^{xb}$  representan alquilo  $C_{1-4}$ ;

$R^{1b}$  representa F;

$Y^1$  representa -O-;

$R^2$  representa hidrógeno;

U representa N o CH;

10  $n_1, n_2, n_3$  y  $n_4$  se seleccionan cada uno independientemente de 1 y 2;

$X^1$  representa CH, y  $X^2$  representa N;

$R^4$  representa isopropilo;

$R^3$  representa - alquilo  $C_{1-6}-NR^{8a}R^{8b}$ ; en donde la entidad alquilo  $C_{1-6}$  en la definición de  $R^3$  puede estar sustituida con uno, dos o tres sustituyentes cada uno  
15 independientemente seleccionado del grupo que consiste en -OH y -O-alquilo  $C_{1-4}$ ;

$R^{8a}$  y  $R^{8b}$  se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno; alquilo  $C_{1-6}$ ; y alquilo  $C_{1-6}$  sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno independientemente seleccionado del grupo que consiste en -OH, ciano, halo, -  
 $S(=O)_2$ -alquilo  $C_{1-4}$ , -O-alquilo  $C_{1-4}$ ,  $-C(=O)-NR^{10a}R^{10b}$ , y  $-NR^{10c}-C(=O)$ -alquilo  $C_{1-4}$ ; y

20 cada  $R^{10a}$ ,  $R^{10b}$ , y  $R^{10c}$  se selecciona independientemente del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo  $C_{1-6}$ ;

y las sales y los solvatos farmacéuticamente aceptables de estos.

De acuerdo con una modalidad, los compuestos de Fórmula (I) son como se definen en el presente documento, y los tautómeros y las formas estereoisoméricas de estos, en donde

$R^{1a}$  representa  $-C(=O)-NR^{xa}R^{xb}$ ;

5  $R^{xa}$  y  $R^{xb}$  representan alquilo  $C_{1-4}$ ;

$R^{1b}$  representa F;

$Y^1$  representa -O-;

$R^2$  representa hidrógeno;

U representa N o CH;

10  $n_1$ ,  $n_2$ ,  $n_3$  y  $n_4$  se seleccionan cada uno independientemente de 1 y 2;

$X^1$  representa CH, y  $X^2$  representa N;

$R^4$  representa isopropilo;

$R^3$  representa - alquilo  $C_{1-6}-NR^{8a}R^{8b}$ ; en donde la entidad alquilo  $C_{1-6}$  en la definición de  $R^3$  puede estar sustituida con uno, dos o tres sustituyentes cada uno  
15 independientemente seleccionado del grupo que consiste en -OH y -O-alquilo  $C_{1-4}$ ;

$R^{8a}$  y  $R^{8b}$  se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno; alquilo  $C_{1-6}$ ; y alquilo  $C_{1-6}$  sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno independientemente seleccionado del grupo que consiste en -OH, ciano, halo, -  
S(=O)<sub>2</sub>-alquilo  $C_{1-4}$ , -O-alquilo  $C_{1-4}$ ,  $-C(=O)-NR^{10a}R^{10b}$ , y  $-NR^{10c}-C(=O)-$ alquilo  $C_{1-4}$ ; y

20 cada  $R^{10a}$ ,  $R^{10b}$ , y  $R^{10c}$  se selecciona independientemente del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo  $C_{1-6}$ ;

y las sales y los solvatos farmacéuticamente aceptables de estos.

De acuerdo con una modalidad, los compuestos de Fórmula (I) son como se definen en el presente documento, y los tautómeros y las formas estereoisoméricas de estos, en donde

$R^{1a}$  representa  $-C(=O)-NR^{xa}R^{xb}$  o Het;

5        Het representa pirimidinilo sustituido con un cicloalquilo  $C_{3-6}$ ;

$R^{xa}$  y  $R^{xb}$  representan alquilo  $C_{1-4}$ ;

$R^{1b}$  representa F;

$Y^1$  representa  $-O-$ ;

$R^2$  representa hidrógeno;

10        U representa N;

$n_1$ ,  $n_2$ ,  $n_3$  y  $n_4$  se seleccionan cada uno independientemente de 1 y 2;

$X^1$  representa CH, y  $X^2$  representa N;

$R^4$  representa isopropilo;

15         $R^3$  representa - alquilo  $C_{1-6}-NR^{8a}R^{8b}$ ; en donde la entidad alquilo  $C_{1-6}$  en la definición de  $R^3$  puede sustituirse con un  $-OH$ ;

$R^{8a}$  y  $R^{8b}$  se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno; alquilo  $C_{1-6}$ ; y alquilo  $C_{1-6}$  sustituido con uno o dos sustituyentes, cada uno seleccionado independientemente del grupo que consiste en halo,  $-O-$  alquilo  $C_{1-4}$ , y  $-NR^{10c}-C(=O)-$  alquilo  $C_{1-4}$ ; y

20        cada  $R^{10a}$ ,  $R^{10b}$ , y  $R^{10c}$  se selecciona independientemente del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo  $C_{1-6}$ ;

y las sales y los solvatos farmacéuticamente aceptables de estos.

De acuerdo con una modalidad, los compuestos de Fórmula (I) son como se definen en el presente documento, y los tautómeros y las formas estereoisoméricas de estos, en donde

$R^{1a}$  representa  $-C(=O)-NR^{xa}R^{xb}$  o Het;

5 Het representa pirimidinilo sustituido con un cicloalquilo  $C_{3-6}$ ;

$R^{xa}$  y  $R^{xb}$  representan alquilo  $C_{1-4}$ ;

$R^{1b}$  representa F;

$Y^1$  representa  $-O-$ ;

$R^2$  representa hidrógeno;

10 U representa N;

$n_2$  es 2;

$n_1$ ,  $n_3$  y  $n_4$  son 1;

$X^1$  representa CH, y  $X^2$  representa N;

$R^4$  representa isopropilo;

15  $R^3$  representa - alquilo  $C_{1-6}-NR^{8a}R^{8b}$ ; en donde la entidad alquilo  $C_{1-6}$  en la definición de  $R^3$  puede sustituirse con un  $-OH$ ;

$R^{8a}$  y  $R^{8b}$  se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno; alquilo  $C_{1-6}$ ; y alquilo  $C_{1-6}$  sustituido con uno o dos sustituyentes, cada uno seleccionado independientemente del grupo que consiste en halo,  $-O-$  alquilo  $C_{1-4}$ ,

20 y  $-NR^{10c}-C(=O)-$  alquilo  $C_{1-4}$ ; y

cada  $R^{10a}$ ,  $R^{10b}$ , y  $R^{10c}$  se selecciona independientemente del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo  $C_{1-6}$ ;

y las sales y los solvatos farmacéuticamente aceptables de estos.

De acuerdo con una modalidad, los compuestos de Fórmula (I) son como se definen en el presente documento, y los tautómeros y las formas estereoisoméricas de estos, en donde

$R^{1a}$  representa  $-C(=O)-NR^{xa}R^{xb}$ ;

5  $R^{xa}$  y  $R^{xb}$  representan alquilo  $C_{1-4}$ ;

$R^{1b}$  representa F;

$Y^1$  representa  $-O-$ ;

$R^2$  representa hidrógeno;

U representa N;

10  $n_2$  es 2;

$n_1$ ,  $n_3$  y  $n_4$  son 1;

$X^1$  representa CH, y  $X^2$  representa N;

$R^4$  representa isopropilo;

$R^3$  representa - alquilo  $C_{1-6}-NR^{8a}R^{8b}$ ;

15  $R^{8a}$  y  $R^{8b}$  se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno; alquilo  $C_{1-6}$ ; y alquilo  $C_{1-6}$  sustituido con uno o dos sustituyentes, cada uno seleccionado independientemente del grupo que consiste en halo,  $-O-$  alquilo  $C_{1-4}$ , y  $-NR^{10c}-C(=O)-$  alquilo  $C_{1-4}$ ; y

20 cada  $R^{10a}$ ,  $R^{10b}$ , y  $R^{10c}$  se selecciona independientemente del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo  $C_{1-6}$ ;

y las sales y los solvatos farmacéuticamente aceptables de estos.

De acuerdo con una modalidad, los compuestos de Fórmula (I) son como se definen en el presente documento, y los tautómeros y las formas estereoisoméricas de estos, en donde

$R^{1a}$  representa  $-C(=O)-NR^{xa}R^{xb}$ ;

$R^{xa}$  y  $R^{xb}$  representan alquilo  $C_{1-4}$ ;

$R^{1b}$  representa F;

$Y^1$  representa -O-;

5  $R^2$  representa hidrógeno;

U representa N;

$n_2$  es 2;

$n_1$ ,  $n_3$  y  $n_4$  son 1;

$X^1$  representa CH, y  $X^2$  representa N;

10  $R^4$  representa isopropilo;

$R^3$  representa  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NR}^{8a}\text{R}^{8b}$ ;

$R^{8a}$  y  $R^{8b}$  se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste

en hidrógeno; alquilo  $C_{1-6}$ ; y alquilo  $C_{1-6}$  sustituido con uno o dos sustituyentes, cada

uno seleccionado independientemente del grupo que consiste en halo, -O- alquilo  $C_{1-4}$ ,

15 y  $-\text{NR}^{10c}-\text{C}(=O)-$  alquilo  $C_{1-4}$ ; y

cada  $R^{10a}$ ,  $R^{10b}$ , y  $R^{10c}$  se selecciona independientemente del grupo que consiste

en hidrógeno y alquilo  $C_{1-6}$ ;

y las sales y los solvatos farmacéuticamente aceptables de estos.

De acuerdo con una modalidad, los compuestos de Fórmula (I) son como se

20 definen en el presente documento, y los tautómeros y las formas estereoisoméricas de estos, en donde

$R^{1a}$  representa  $-C(=O)-NR^{xa}R^{xb}$ ;

$R^{xa}$  y  $R^{xb}$  representan alquilo  $C_{1-4}$ ;

$R^{1b}$  representa F;

$Y^1$  representa -O-;

$R^2$  representa hidrógeno;

U representa N;

$n_1$ ,  $n_2$ ,  $n_3$  y  $n_4$  se seleccionan cada uno independientemente de 1 y 2;

5  $X^1$  representa CH, y  $X^2$  representa N;

$R^4$  representa isopropilo;

$R^3$  representa - alquilo  $C_{1-6}$ -NR<sup>8a</sup>R<sup>8b</sup>;

$R^{8a}$  y  $R^{8b}$  se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno; alquilo  $C_{1-6}$ ; y alquilo  $C_{1-6}$  sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno independientemente seleccionado del grupo que consiste en -OH, ciano, halo, -S(=O)<sub>2</sub>-alquilo  $C_{1-4}$ , -O-alquilo  $C_{1-4}$ , y -C(=O)-NR<sup>10a</sup>R<sup>10b</sup>; y

10 cada  $R^{10a}$  y  $R^{10b}$  se selecciona independientemente del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo  $C_{1-6}$ ;

y las sales y los solvatos farmacéuticamente aceptables de estos.

15 De acuerdo con una modalidad, los compuestos de Fórmula (I) son como se definen en el presente documento, y los tautómeros y las formas estereoisoméricas de estos, en donde

$R^{1a}$  representa -C(=O)-NR<sup>xa</sup>R<sup>xb</sup>;

$R^{xa}$  y  $R^{xb}$  representan alquilo  $C_{1-4}$ ;

20  $R^{1b}$  representa F;

$Y^1$  representa -O-;

$R^2$  representa hidrógeno;

U representa N;

$n_1$ ,  $n_2$ ,  $n_3$  y  $n_4$  se seleccionan cada uno independientemente de 1 y 2;

$X^1$  representa CH, y  $X^2$  representa N;

$R^4$  representa isopropilo;

$R^3$  representa  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NR}^{8a}\text{R}^{8b}$ ;

$R^{8a}$  y  $R^{8b}$  se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste

5 en hidrógeno; alquilo  $\text{C}_{1-6}$ ; y alquilo  $\text{C}_{1-6}$  sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno independientemente seleccionado del grupo que consiste en -OH, ciano, halo, -  
 $\text{S}(=\text{O})_2$ -alquilo  $\text{C}_{1-4}$ , -O-alquilo  $\text{C}_{1-4}$ , y  $-\text{C}(=\text{O})-\text{NR}^{10a}\text{R}^{10b}$ ; y

cada  $R^{10a}$  y  $R^{10b}$  se selecciona independientemente del grupo que consiste en  
 hidrógeno y alquilo  $\text{C}_{1-6}$ ;

10 y las sales y los solvatos farmacéuticamente aceptables de estos.

De acuerdo con una modalidad, los compuestos de Fórmula (I) son como se definen en el presente documento, y los tautómeros y las formas estereoisoméricas de estos, en donde

$R^{1a}$  representa  $-\text{C}(=\text{O})-\text{NR}^{xa}\text{R}^{xb}$ ;

15  $R^{xa}$  y  $R^{xb}$  representa hidrógeno o alquilo  $\text{C}_{1-4}$ ;

$R^{1b}$  representa F;

$Y^1$  representa -O-;

$R^2$  representa hidrógeno;

U representa N;

20  $n_1$ ,  $n_2$ ,  $n_3$  y  $n_4$  se seleccionan cada uno independientemente de 1 y 2;

$X^1$  representa CH, y  $X^2$  representa N;

$R^4$  representa isopropilo;

$R^3$  representa  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NR}^{8a}\text{R}^{8b}$ ;

$R^{8a}$  y  $R^{8b}$  se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno; alquilo  $C_{1-6}$ ; y alquilo  $C_{1-6}$  sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno independientemente seleccionado del grupo que consiste en -OH, ciano, halo, -  
 $S(=O)_2$ -alquilo  $C_{1-4}$ , -O-alquilo  $C_{1-4}$ , y  $-C(=O)-NR^{10a}R^{10b}$ ; y

5 cada  $R^{10a}$  y  $R^{10b}$  se selecciona independientemente del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo  $C_{1-6}$ ;

y las sales y los solvatos farmacéuticamente aceptables de estos.

De acuerdo con una modalidad, los compuestos de Fórmula (I) son como se definen en el presente documento, y los tautómeros y las formas estereoisoméricas de  
 10 estos, en donde

$R^{1a}$  representa  $-C(=O)-NR^{xa}R^{xb}$ ;

$R^{xa}$  y  $R^{xb}$  representa hidrógeno o alquilo  $C_{1-4}$ ;

$R^{1b}$  representa F;

$Y^1$  representa -O-;

15  $R^2$  representa hidrógeno;

U representa N;

$n_1$ ,  $n_2$ ,  $n_3$  y  $n_4$  se seleccionan cada uno independientemente de 1 y 2;

$X^1$  representa CH, y  $X^2$  representa N;

$R^4$  representa isopropilo;

20  $R^3$  representa  $-CH_2-CH_2-CH_2-NR^{8a}R^{8b}$ ; y

$R^{8a}$  y  $R^{8b}$  se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno; alquilo  $C_{1-6}$ ; y alquilo  $C_{1-6}$  sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno seleccionado independientemente del grupo que consiste en -OH y -O- alquilo  $C_{1-4}$ ;

y las sales y los solvatos farmacéuticamente aceptables de estos.

De acuerdo con una modalidad, los compuestos de Fórmula (I) son como se definen en el presente documento, y los tautómeros y las formas estereoisoméricas de estos, en donde

$R^{1a}$  representa  $-C(=O)-NR^{xa}R^{xb}$ ;

5  $R^{xa}$  y  $R^{xb}$  representan alquilo  $C_{1-4}$ ;

$R^{1b}$  representa F;

$Y^1$  representa -O-;

$R^2$  representa hidrógeno;

U representa N;

10  $n_1$ ,  $n_2$ ,  $n_3$  y  $n_4$  se seleccionan cada uno independientemente de 1 y 2;

$X^1$  representa CH, y  $X^2$  representa N;

$R^4$  representa isopropilo;

$R^3$  representa - alquilo  $C_{1-6}-NR^{8a}R^{8b}$ ; y

cada  $R^{8a}$  y  $R^{8b}$  se selecciona independientemente del grupo que consiste en

15 alquilo  $C_{1-6}$ ; y alquilo  $C_{1-6}$  sustituido con un O-alquilo  $C_{1-4}$ ;

y las sales y los solvatos farmacéuticamente aceptables de estos.

De acuerdo con una modalidad, los compuestos de Fórmula (I) son como se definen en el presente documento, y los tautómeros y las formas estereoisoméricas de estos, en donde

20  $R^{1a}$  representa  $-C(=O)-NR^{xa}R^{xb}$ ;

$R^{xa}$  y  $R^{xb}$  representan alquilo  $C_{1-4}$ ;

$R^{1b}$  representa F;

$Y^1$  representa -O-;

$R^2$  representa hidrógeno;

U representa N;

n1, n2, n3 y n4 se seleccionan cada uno independientemente de 1 y 2;

X<sup>1</sup> representa CH, y X<sup>2</sup> representa N;

R<sup>4</sup> representa isopropilo;

5 R<sup>3</sup> representa -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NR<sup>8a</sup>R<sup>8b</sup>; y

cada R<sup>8a</sup> y R<sup>8b</sup> se selecciona independientemente del grupo que consiste en alquilo C<sub>1-6</sub>; y alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido con un O-alquilo C<sub>1-4</sub>;

y las sales y los solvatos farmacéuticamente aceptables de estos.

De acuerdo con una modalidad, los compuestos de Fórmula (I) son como se definen en el presente documento, y los tautómeros y las formas estereoisoméricas de estos, en donde

R<sup>1a</sup> representa -C(=O)-NR<sup>xa</sup>R<sup>xb</sup>; o Het;

Het representa un anillo aromático monocíclico de 6 miembros que contiene dos átomos de nitrógeno; en donde dicho anillo aromático monocíclico de 6 miembros se sustituye opcionalmente con un cicloalquilo C<sub>3-6</sub>;

R<sup>xa</sup> y R<sup>xb</sup> representan alquilo C<sub>1-4</sub>;

R<sup>1b</sup> representa F;

Y<sup>1</sup> representa -O-;

R<sup>2</sup> es hidrógeno;

20 U representa N;

n1, n2, n3 y n4 se seleccionan cada uno independientemente de 1 y 2;

X<sup>1</sup> representa CH, y X<sup>2</sup> representa N;

R<sup>4</sup> representa isopropilo;

$R^3$  representa alquilo- $C_{1-6}-NR^{8a}R^{8b}$ , alquilo- $C_{1-6}-C(=O)-NR^{9a}R^{9b}$ , alquilo  $C_{1-6}-OH$ , o alquilo- $C_{1-6}-NR^{11}-C(=O)-O$ -alquilo  $C_{1-4}-O-C(=O)$ -alquilo  $C_{1-4}$ ;

$R^{8a}$  y  $R^{8b}$  se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno; alquilo  $C_{1-6}$ ;  $-C(O)$ -alquilo  $C_{1-4}$ ;  $-C(=O)-O$ -alquilo  $C_{1-4}$ ;  $-C(=O)-NR^{12a}R^{12b}$ ; y alquilo  $C_{1-6}$  sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno independientemente seleccionado del grupo que consiste en ciano, halo,  $-S(=O)_2$ - alquilo  $C_{1-4}$ , y  $-O$ -alquilo  $C_{1-4}$ ; y

cada  $R^{9a}$ ,  $R^{9b}$ ,  $R^{12a}$ , y  $R^{12b}$  se selecciona independientemente del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo  $C_{1-6}$ ;

y las sales y los solvatos farmacéuticamente aceptables de estos.

De acuerdo con una modalidad, los compuestos de Fórmula (I) son como se definen en el presente documento, y los tautómeros y las formas estereoisoméricas de estos, en donde

$R^{1a}$  representa  $-C(=O)-NR^{xa}R^{xb}$ ;

$R^{xa}$  y  $R^{xb}$  representan alquilo  $C_{1-4}$ ;

$R^{1b}$  representa F;

$Y^1$  representa  $-O-$ ;

$R^2$  es hidrógeno;

U representa N;

$n_1$ ,  $n_2$ ,  $n_3$  y  $n_4$  se seleccionan cada uno independientemente de 1 y 2;

$X^1$  representa CH, y  $X^2$  representa N;

$R^4$  representa isopropilo;

$R^3$  representa - alquilo  $C_{1-6}-NR^{8a}R^{8b}$ , -alquilo  $C_{1-6}-C(=O)-NR^{9a}R^{9b}$ , o - alquilo  $C_{1-6}-OH$ ;

$R^{8a}$  y  $R^{8b}$  se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno; alquilo  $C_{1-6}$ ;  $-C(O)$ -alquilo  $C_{1-4}$ ;  $-C(=O)-O$ -alquilo  $C_{1-4}$ ;  $-C(=O)-NR^{12a}R^{12b}$ ; y alquilo

C<sub>1-6</sub> sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno independientemente seleccionado del grupo que consiste en ciano, halo, -S(=O)<sub>2</sub>- alquilo C<sub>1-4</sub>, y -O-alquilo C<sub>1-4</sub>; y

cada R<sup>9a</sup>, R<sup>9b</sup>, R<sup>12a</sup>, y R<sup>12b</sup> se selecciona independientemente del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo C<sub>1-6</sub>;

5 y las sales y los solvatos farmacéuticamente aceptables de estos.

En una modalidad, la presente invención incluye compuestos de Fórmula (I) y las sales y los solvatos farmacéuticamente aceptables de estos, o cualquier subgrupo de estos como se mencionó en cualquiera de las otras modalidades, en donde R<sup>1b</sup> representa F.

10 En una modalidad, la presente invención incluye compuestos de Fórmula (I) y las sales y los solvatos farmacéuticamente aceptables de estos, o cualquier subgrupo de estos como se mencionó en cualquiera de las otras modalidades, en donde R<sup>2</sup> representa hidrógeno.

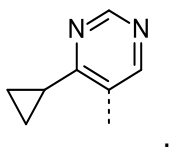
15 En una modalidad, la presente invención incluye compuestos de Fórmula (I) y las sales y los solvatos farmacéuticamente aceptables de estos, o cualquier subgrupo de estos como se menciona en cualquiera de las otras modalidades, en donde n<sub>1</sub> es 1, n<sub>2</sub> es 2, n<sub>3</sub> es 1, y n<sub>4</sub> es 1.

En una modalidad, la presente invención incluye compuestos de Fórmula (I) y las sales y los solvatos farmacéuticamente aceptables de estos, o cualquier subgrupo de estos como se mencionó en cualquiera de las otras modalidades, en donde Y<sup>1</sup> representa -O-.

20 En una modalidad, la presente invención incluye compuestos de Fórmula (I) y las sales y los solvatos farmacéuticamente aceptables de estos, o cualquier subgrupo de estos como se mencionó en cualquiera de las otras modalidades, en donde Y<sup>1</sup> representa -O-. y U representa N.

En una modalidad, la presente invención incluye compuestos de Fórmula (I) y las sales y los solvatos farmacéuticamente aceptables de estos, o cualquier subgrupo de estos como se mencionó en cualquiera de las otras modalidades, en donde  $Y^1$  representa -O-. U representa N;  $R^{1b}$  representa F; y  $R^2$  representa hidrógeno.

5 En una modalidad, la presente invención incluye compuestos de Fórmula (I) y las sales y los solvatos farmacéuticamente aceptables de estos, o cualquier subgrupo de estos como se menciona en cualquiera de las otras modalidades, en donde Het representa



10 En una modalidad, la presente invención incluye compuestos de Fórmula (I) y las sales y los solvatos farmacéuticamente aceptables de estos, o cualquier subgrupo de estos como se mencionó en cualquiera de las otras modalidades, en donde Het representa un anillo aromático monocíclico de 5 o 6 miembros que contiene uno o dos átomos de nitrógeno;

15 en donde dicho anillo aromático de 5 o 6 miembros monocíclico está sustituido con un cicloalquilo  $C_{3-6}$ .

En una modalidad, la presente invención incluye compuestos de Fórmula (I) y las sales y los solvatos farmacéuticamente aceptables de estos, o cualquier subgrupo de estos como se mencionó en cualquiera de las otras modalidades, en donde Het

20 representa un anillo aromático monocíclico de 5 o 6 miembros que contiene uno o dos átomos de nitrógeno; en donde dicho anillo aromático de 5 o 6 miembros monocíclico está sustituido con un cicloalquilo  $C_{3-6}$ ; y  $R^{1b}$  representa F.

En una modalidad, la presente invención incluye compuestos de Fórmula (I) y las sales y los solvatos farmacéuticamente aceptables de estos, o cualquier subgrupo de estos como se mencionó en cualquiera de las otras modalidades, en donde Het representa un anillo aromático monocíclico de 6 miembros que contiene uno o dos átomos de nitrógeno; en donde dicho anillo aromático de 6 miembros monocíclico está sustituido con un cicloalquilo C<sub>3-6</sub>.

En una modalidad, la presente invención incluye compuestos de Fórmula (I) y las sales y los solvatos farmacéuticamente aceptables de estos, o cualquier subgrupo de estos como se mencionó en cualquiera de las otras modalidades, en donde Het representa un anillo aromático monocíclico de 6 miembros que contiene uno o dos átomos de nitrógeno; y en donde dicho anillo aromático de 6 miembros monocíclico está sustituido con un cicloalquilo C<sub>3-6</sub>; y R<sup>1b</sup> representa F.

En una modalidad, la presente invención incluye compuestos de Fórmula (I) y las sales y los solvatos farmacéuticamente aceptables de estos, o cualquier subgrupo de estos como se mencionó en cualquiera de las otras modalidades, en donde R<sup>3</sup> representa - alquilo C<sub>1-6</sub>-NR<sup>8a</sup>R<sup>8b</sup>; en donde la entidad del alquilo C<sub>1-6</sub> en la definición R<sup>3</sup> se puede sustituir con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados cada uno independientemente del grupo que consiste en ciano, halo y alquilo -O-C<sub>1-4</sub>.

En una modalidad, la presente invención incluye compuestos de la Fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables, y los solvatos de este, o cualquier subgrupo de este como se menciona en cualquiera de las otras modalidades, en donde R<sup>3</sup> representa alquilo -C<sub>1-6</sub>-NR<sup>8a</sup>R<sup>8b</sup>; en donde la entidad del alquilo C<sub>1-6</sub> en la definición R<sup>3</sup> se puede sustituir con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados cada uno independientemente del grupo que consiste en ciano, halo, -OH, y alquilo -O-C<sub>1-4</sub>.

En una modalidad, la presente invención incluye compuestos de Fórmula (I) y las sales y los solvatos farmacéuticamente aceptables de estos, o cualquier subgrupo de estos como se mencionó en cualquiera de las otras modalidades, en donde  $R^3$  representa alquilo -alquilo  $C_{1-6}-NR^{8a}R^{8b}$ .

5 En una modalidad, la presente invención incluye compuestos de Fórmula (I) y las sales y los solvatos farmacéuticamente aceptables de estos, o cualquier subgrupo de estos como se mencionó en cualquiera de las otras modalidades, en donde  $R^3$  representa - alquilo  $C_{1-6}-NR^{8a}R^{8b}$ ; en donde la entidad alquilo  $C_{1-6}$  en la definición  $R^3$  puede estar sustituida con uno, dos o tres sustituyentes cada uno independientemente  
10 seleccionado del grupo que consiste en ciano, halo y -O-alquilo  $C_{1-4}$ ;  $R^{8a}$  y  $R^{8b}$  se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno; alquilo  $C_{1-6}$ ; y alquilo  $C_{1-6}$  sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno independientemente seleccionado del grupo que consiste en -OH, ciano, halo,  $-S(=O)_2$ -alquilo  $C_{1-4}$ , -O-alquilo  $C_{1-4}$ ,  $-C(=O)-NR^{10a}R^{10b}$ , y  $-NR^{10c}-C(=O)$ -alquilo  $C_{1-4}$ .

15 En una modalidad, la presente invención incluye compuestos de la Fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables, y los solvatos de este, o cualquier subgrupo de este como se menciona en cualquiera de las otras modalidades, en donde  $R^3$  representa alquilo  $-C_{1-6}-NR^{8a}R^{8b}$ ; en donde la entidad del alquilo  $C_{1-6}$  en la definición  $R^3$  se puede sustituir con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados cada uno  
20 independientemente del grupo que consiste en ciano, halo, -OH, y alquilo -O- $C_{1-4}$ ;  $R^{8a}$  y  $R^{8b}$  se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno; alquilo  $C_{1-6}$ ; y alquilo  $C_{1-6}$  sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno independientemente seleccionado del grupo que consiste en -OH, ciano, halo,  $-S(=O)_2$ -alquilo  $C_{1-4}$ , -O-alquilo  $C_{1-4}$ ,  $-C(=O)-NR^{10a}R^{10b}$ , y  $-NR^{10c}-C(=O)$ -alquilo  $C_{1-4}$ ,

En una modalidad, la presente invención incluye compuestos de la Fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables, y los solvatos de este, o cualquier subgrupo de este como se menciona en cualquiera de las otras modalidades, en donde  $R^3$  representa alquilo  $-C_{1-6}-NR^{8a}R^{8b}$ ; en donde la entidad alquilo  $C_{1-6}$  en la definición  $R^3$  puede estar sustituida con uno, dos o tres sustituyentes cada uno independientemente seleccionado del grupo que consiste en ciano, halo y  $-O$ -alquilo  $C_{1-4}$ ;  $R^{8a}$  y  $R^{8b}$  se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno; alquilo  $C_{1-6}$ ; y alquilo  $C_{1-6}$  sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno independientemente seleccionado del grupo que consiste en ciano, halo,  $-S(=O)_2$ -alquilo  $C_{1-4}$ ,  $-O$ -alquilo  $C_{1-4}$  y  $-C(=O)-NR^{10a}R^{10b}$ .

En una modalidad, la presente invención incluye compuestos de la Fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables, y los solvatos de este, o cualquier subgrupo de este como se menciona en cualquiera de las otras modalidades, en donde  $R^3$  representa alquilo  $-C_{1-6}-NR^{8a}R^{8b}$ ; en donde la entidad alquilo  $C_{1-6}$  en la definición  $R^3$  puede estar sustituida con uno, dos o tres sustituyentes cada uno independientemente seleccionado del grupo que consiste en ciano, halo y  $-O$ -alquilo  $C_{1-4}$ ;  $R^{8a}$  y  $R^{8b}$  se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno; alquilo  $C_{1-6}$ ; y alquilo  $C_{1-6}$  sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno independientemente seleccionado del grupo que consiste en ciano, halo,  $-S(=O)_2$ -alquilo  $C_{1-4}$ ,  $-O$ -alquilo  $C_{1-4}$ ,  $-C(=O)-NR^{10a}R^{10b}$ , y  $-NR^{10c}-C(=O)$ -alquilo  $C_{1-4}$ .

En una modalidad, la presente invención incluye compuestos de la Fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables, y los solvatos de este, o cualquier subgrupo de este como se menciona en cualquiera de las otras modalidades, en donde  $R^3$  representa alquilo  $-C_{1-6}-NR^{8a}R^{8b}$ ; en donde la entidad del alquilo  $C_{1-6}$  en la definición  $R^3$  se puede sustituir con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados cada uno independientemente del grupo que

consiste en ciano, halo, -OH, y alquilo -O-C<sub>1-4</sub>; R<sup>8a</sup> y R<sup>8b</sup> se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno; alquilo C<sub>1-6</sub>; y alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno independientemente seleccionado del grupo que consiste en ciano, halo, -S(=O)<sub>2</sub>-alquilo C<sub>1-4</sub>, -O-alquilo C<sub>1-4</sub> y -C(=O)-NR<sup>10a</sup>R<sup>10b</sup>.

5           En una modalidad, la presente invención incluye compuestos de la Fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables, y los solvatos de este, o cualquier subgrupo de este como se menciona en cualquiera de las otras modalidades, en donde R<sup>3</sup> representa alquilo -C<sub>1-6</sub>-NR<sup>8a</sup>R<sup>8b</sup>; en donde la entidad del alquilo C<sub>1-6</sub> en la definición R<sup>3</sup> se puede sustituir con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados cada uno  
10           independientemente del grupo que consiste en ciano, halo, -OH, y alquilo -O-C<sub>1-4</sub>; R<sup>8a</sup> y R<sup>8b</sup> se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno; alquilo C<sub>1-6</sub>; y alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno independientemente seleccionado del grupo que consiste en ciano, halo, -S(=O)<sub>2</sub>-alquilo C<sub>1-4</sub>, -O-alquilo C<sub>1-4</sub>, -C(=O)-NR<sup>10a</sup>R<sup>10b</sup>, y -NR<sup>10c</sup>-C(=O)-alquilo C<sub>1-4</sub>.

15           En una modalidad, la presente invención incluye compuestos de la Fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables, y los solvatos de este, o cualquier subgrupo de este como se menciona en cualquiera de las otras modalidades, en donde R<sup>3</sup> representa alquilo -C<sub>2-6</sub>-NR<sup>8a</sup>R<sup>8b</sup>; en donde la entidad alquilo C<sub>2-6</sub> en la definición de R<sup>3</sup> puede estar sustituida con uno, dos o tres sustituyentes cada uno independientemente  
20           seleccionado del grupo que consiste en ciano, halo y -O-alquilo C<sub>1-4</sub>.

En una modalidad, la presente invención incluye compuestos de la Fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables, y los solvatos de este, o cualquier subgrupo de este como se menciona en cualquiera de las otras modalidades, en donde R<sup>3</sup> representa alquilo -C<sub>2-6</sub>-NR<sup>8a</sup>R<sup>8b</sup>; en donde la entidad alquilo C<sub>2-6</sub> en la definición de R<sup>3</sup>

puede estar sustituida con uno, dos o tres sustituyentes cada uno independientemente seleccionado del grupo que consiste en ciano, halo, -OH, y -O-alquilo C<sub>1-4</sub>.

En una modalidad, la presente invención incluye compuestos de la Fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables, y los solvatos de este, o cualquier subgrupo de este como se menciona en cualquiera de las otras modalidades, en donde R<sup>3</sup> representa alquilo -C<sub>2-6</sub>-NR<sup>8a</sup>R<sup>8b</sup>; en donde la entidad alquilo C<sub>2-6</sub> en la definición de R<sup>3</sup> puede estar sustituida con uno, dos o tres sustituyentes cada uno independientemente seleccionado del grupo que consiste en ciano, halo y -O-alquilo C<sub>1-4</sub>; R<sup>8a</sup> y R<sup>8b</sup> se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno; alquilo C<sub>1-6</sub>; y alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno independientemente seleccionado del grupo que consiste en -OH, ciano, halo, -S(=O)<sub>2</sub>-alquilo C<sub>1-4</sub>, -O-alquilo C<sub>1-4</sub>, -C(=O)-NR<sup>10a</sup>R<sup>10b</sup>, y -NR<sup>10c</sup>-C(=O)-alquilo C<sub>1-4</sub>.

En una modalidad, la presente invención incluye compuestos de la Fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables, y los solvatos de este, o cualquier subgrupo de este como se menciona en cualquiera de las otras modalidades, en donde R<sup>3</sup> representa alquilo -C<sub>2-6</sub>-NR<sup>8a</sup>R<sup>8b</sup>; en donde la entidad alquilo C<sub>2-6</sub> en la definición de R<sup>3</sup> puede estar sustituida con uno, dos o tres sustituyentes cada uno independientemente seleccionado del grupo que consiste en ciano, halo, -OH, y -O-alquilo C<sub>1-4</sub>; R<sup>8a</sup> y R<sup>8b</sup> se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno; alquilo C<sub>1-6</sub>; y alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno independientemente seleccionado del grupo que consiste en -OH, ciano, halo, -S(=O)<sub>2</sub>-alquilo C<sub>1-4</sub>, -O-alquilo C<sub>1-4</sub>, -C(=O)-NR<sup>10a</sup>R<sup>10b</sup>, y -NR<sup>10c</sup>-C(=O)-alquilo C<sub>1-4</sub>.

En una modalidad, la presente invención incluye compuestos de la Fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables, y los solvatos de este, o cualquier subgrupo de este

como se menciona en cualquiera de las otras modalidades, en donde  $R^3$  representa alquilo  $-C_{2-6}-NR^{8a}R^{8b}$ ; en donde la entidad alquilo  $C_{2-6}$  en la definición de  $R^3$  puede estar sustituida con uno, dos o tres sustituyentes cada uno independientemente seleccionado del grupo que consiste en ciano, halo,  $-OH$ , y  $-O$ -alquilo  $C_{1-4}$ ;  $R^{8a}$  y  $R^{8b}$  se seleccionan cada uno  
 5 independientemente del grupo que consiste en hidrógeno; alquilo  $C_{1-6}$ ; y alquilo  $C_{1-6}$  sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno independientemente seleccionado del grupo que consiste en ciano, halo,  $-S(=O)_2$ -alquilo  $C_{1-4}$ ,  $-O$ -alquilo  $C_{1-4}$  y  $-C(=O)-NR^{10a}R^{10b}$ .

En una modalidad, la presente invención incluye compuestos de la Fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables, y los solvatos de este, o cualquier subgrupo de este  
 10 como se menciona en cualquiera de las otras modalidades, en donde  $R^3$  representa alquilo  $-C_{2-6}-NR^{8a}R^{8b}$ ; en donde la entidad alquilo  $C_{2-6}$  en la definición de  $R^3$  puede estar sustituida con uno, dos o tres sustituyentes cada uno independientemente seleccionado del grupo que consiste en ciano, halo y  $-O$ -alquilo  $C_{1-4}$ ;  $R^{8a}$  y  $R^{8b}$  se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno; alquilo  $C_{1-6}$ ; y alquilo  $C_{1-6}$   
 15 sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno independientemente seleccionado del grupo que consiste en ciano, halo,  $-S(=O)_2$ -alquilo  $C_{1-4}$ ,  $-O$ -alquilo  $C_{1-4}$  y  $-C(=O)-NR^{10a}R^{10b}$ .

En una modalidad, la presente invención incluye compuestos de la Fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables, y los solvatos de este, o cualquier subgrupo de este como se menciona en cualquiera de las otras modalidades, en donde  $R^3$   
 20 representa alquilo  $-C_{1-6}-NR^{8a}R^{8b}$ ; cada  $R^{8a}$  y  $R^{8b}$  se selecciona independientemente del grupo que consiste en alquilo  $C_{1-6}$ ; y alquilo  $C_{1-6}$  sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno independientemente seleccionado del grupo que consiste en  $-OH$ , ciano, halo,  $-S(=O)_2$ -alquilo  $C_{1-4}$ ,  $-O$ -alquilo  $C_{1-4}$  y  $-C(=O)-NR^{10a}R^{10b}$ .

En una modalidad, la presente invención incluye compuestos de la Fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables, y los solvatos de este, o cualquier subgrupo de este como se menciona en cualquiera de las otras modalidades, en donde  $R^3$  representa alquilo  $-C_{2-6}-NR^{8a}R^{8b}$ ; en donde la entidad alquilo  $C_{2-6}$  en la definición de  $R^3$  puede estar sustituida con uno, dos o tres sustituyentes cada uno independientemente seleccionado del grupo que consiste en ciano, halo,  $-OH$ , y  $-O$ -alquilo  $C_{1-4}$ ;  $R^{8a}$  y  $R^{8b}$  se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno; alquilo  $C_{1-6}$ ; y alquilo  $C_{1-6}$  sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno independientemente seleccionado del grupo que consiste en ciano, halo,  $-S(=O)_2$ -alquilo  $C_{1-4}$ ,  $-O$ -alquilo  $C_{1-4}$ ,  $-C(=O)-NR^{10a}R^{10b}$ , y  $-NR^{10c}-C(=O)$ -alquilo  $C_{1-4}$ .

En una modalidad, la presente invención incluye compuestos de la Fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables, y los solvatos de este, o cualquier subgrupo de este como se menciona en cualquiera de las otras modalidades, en donde  $R^3$  representa alquilo  $-C_{2-6}-NR^{8a}R^{8b}$ ; en donde la entidad alquilo  $C_{2-6}$  en la definición de  $R^3$  puede estar sustituida con uno, dos o tres sustituyentes cada uno independientemente seleccionado del grupo que consiste en ciano, halo y  $-O$ -alquilo  $C_{1-4}$ ;  $R^{8a}$  y  $R^{8b}$  se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno; alquilo  $C_{1-6}$ ; y alquilo  $C_{1-6}$  sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno independientemente seleccionado del grupo que consiste en ciano, halo,  $-S(=O)_2$ -alquilo  $C_{1-4}$ ,  $-O$ -alquilo  $C_{1-4}$ ,  $-C(=O)-NR^{10a}R^{10b}$ , y  $-NR^{10c}-C(=O)$ -alquilo  $C_{1-4}$ .

En una modalidad, la presente invención incluye compuestos de la Fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables, y los solvatos de este, o cualquier subgrupo de este como se menciona en cualquiera de las otras modalidades, en donde  $R^3$  representa alquilo  $-C_{1-6}-NR^{8a}R^{8b}$ ; cada  $R^{8a}$  y  $R^{8b}$  se selecciona independientemente del grupo que

consiste en alquilo C<sub>1-6</sub>; y alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido con uno, dos o tres sustituyentes cada uno independientemente seleccionado del grupo que consiste en -OH, ciano, halo, -S(=O)<sub>2</sub>-alquilo C<sub>1-4</sub>, -O-alquilo C<sub>1-4</sub>, -C(=O)-NR<sup>10a</sup>R<sup>10b</sup>, y -NR<sup>10c</sup>-C(=O)-alquilo C<sub>1-4</sub>.

En una modalidad, la presente invención incluye compuestos de la Fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables, y los solvatos de este, o cualquier subgrupo de este como se menciona en cualquiera de las otras modalidades, en donde R<sup>3</sup> representa alquilo -C<sub>1-6</sub>-NR<sup>8a</sup>R<sup>8b</sup>; R<sup>8a</sup> representa alquilo C<sub>1-6</sub>; y R<sup>8b</sup> representa alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido con un -O-alquilo C<sub>1-4</sub>.

En una modalidad, la presente invención se relaciona con métodos para usar los compuestos de Fórmula (I) y las sales y los solvatos farmacéuticamente aceptables de estos, o cualquier subgrupo de estos como se mencionó en cualquiera de las otras modalidades, en donde R<sup>3</sup> representa -alquilo C<sub>1-6</sub>-NR<sup>8a</sup>R<sup>8b</sup>, -alquilo C<sub>1-6</sub>-C(=O)-NR<sup>9a</sup>R<sup>9b</sup>, -alquilo C<sub>1-6</sub>-OH, o -alquilo C<sub>1-6</sub>-NR<sup>11</sup>-C(=O)-O-alquilo C<sub>1-4</sub>-O-C(=O)-alquilo C<sub>1-4</sub>; en donde cada uno de las entidades alquilo C<sub>1-4</sub> o alquilo C<sub>1-6</sub> en las definiciones de R<sup>3</sup> independientemente entre sí pueden estar sustituidas con uno, dos o tres sustituyentes cada uno independientemente seleccionado del grupo que consiste en ciano, halo u -O-alquilo C<sub>1-4</sub>.

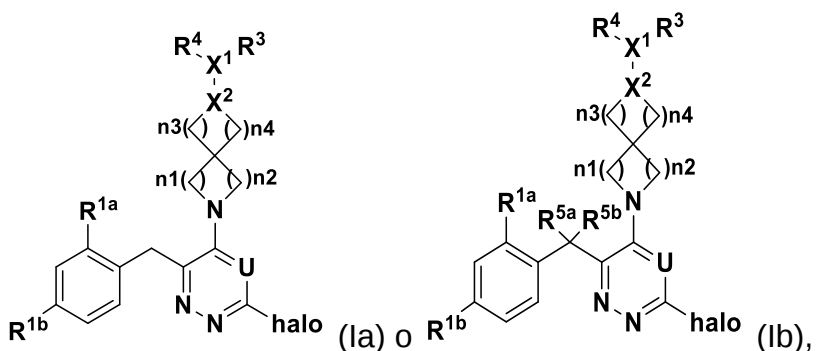
En una modalidad, la presente invención incluye compuestos de Fórmula (I) y las sales y los solvatos farmacéuticamente aceptables de estos, o cualquier subgrupo de estos como se mencionó en cualquiera de las otras modalidades, en donde R<sup>3</sup> representa alquilo -C<sub>1-6</sub>-NR<sup>8a</sup>R<sup>8b</sup>, -alquilo C<sub>1-6</sub>-C(=O)-NR<sup>9a</sup>R<sup>9b</sup>, o -alquilo C<sub>1-6</sub>-NR<sup>11</sup>-C(=O)-O-alquilo C<sub>1-4</sub>-O-C(=O)-alquilo C<sub>1-4</sub>; en donde cada una de las entidades alquilo C<sub>1-4</sub> o alquilo C<sub>1-6</sub> en las definiciones de R<sup>3</sup> independientemente entre sí pueden estar sustituidas con uno, dos o tres sustituyentes cada uno independientemente seleccionado del grupo que consiste en ciano, halo, -OH, y -O-alquilo C<sub>1-4</sub>.

En una modalidad, la presente invención se relaciona con aquellos compuestos de Fórmula (I) y las sales y los solvatos farmacéuticamente aceptables de estos, o cualquier subgrupo de estos como se mencionó en cualquiera de las otras modalidades, en donde  $R^3$  representa  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NR}^{8a}\text{R}^{8b}$ .

5 En una modalidad, la presente invención incluye compuestos de Fórmula (I) y las sales y los solvatos farmacéuticamente aceptables de estos, o cualquier subgrupo de estos como se mencionó en cualquiera de las otras modalidades, en donde  $R^3$  representa  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NR}^{8a}\text{R}^{8b}$ ;  $R^{8a}$  representa metilo; y  $R^{8b}$  representa  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OCH}_3$ .

10 En una modalidad, la presente invención incluye compuestos de la Fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables, y los solvatos de este, o cualquier subgrupo de este como se menciona en cualquiera de las otras modalidades, en donde alquilo  $C_{1-6}$  en la definición  $R^3$  alquilo  $-\text{C}_{1-6}-\text{NR}^{8a}\text{R}^{8b}$  se limita a  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ .

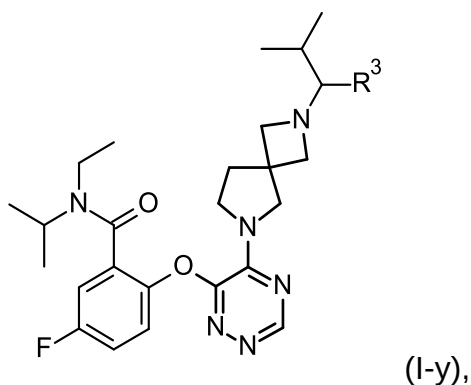
15 En una modalidad, la presente invención incluye compuestos de Fórmula (I) y las sales y los solvatos farmacéuticamente aceptables de estos, o cualquier subgrupo de estos como se mencionó en cualquiera de las otras modalidades, en donde los compuestos de Fórmula (I) se restringen a los compuestos de la Fórmula (Ia) o Fórmula (Ib):



en donde  $R^{1a}$ ,  $R^{1b}$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^{5a}$ ,  $R^{5b}$ ,  $X^1$ ,  $X^2$ ,  $n_1$ ,  $n_2$ ,  $n_3$ ,  $n_4$  y halo son como se definen para los compuestos de Fórmula (I) o cualquier subgrupo de estos como se mencionó en cualquiera de las otras modalidades.

En una modalidad, los compuestos de Fórmula (I), o las sales o los solvatos farmacéuticamente aceptables de estos, o cualquier subgrupo de estos como se mencionó en cualquiera de las otras modalidades, se restringen a compuestos de la Fórmula (Ia), o las sales o los solvatos farmacéuticamente aceptables de estos. En una modalidad, los compuestos de Fórmula (I), o las sales o los solvatos farmacéuticamente aceptables de estos, o cualquier subgrupo de estos como se mencionó en cualquiera de las otras modalidades, se restringen a los compuestos de la Fórmula (Ib), o las sales o los solvatos farmacéuticamente aceptables de estos.

En una modalidad, la presente invención incluye compuestos de Fórmula (I) y las sales y los solvatos farmacéuticamente aceptables de estos, o cualquier subgrupo de estos como se mencionó en cualquiera de las otras modalidades, en donde los compuestos de Fórmula (I) se restringen a los compuestos de la Fórmula (I-y):

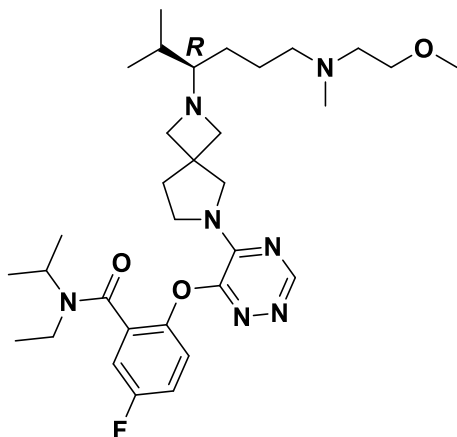


en donde  $R^3$  es como se define para los compuestos de la Fórmula (I) o cualquier subgrupo de este como se menciona en cualquiera de las otras modalidades.

En la Fórmula (I-y)  $n_1$  es 1,  $n_2$  es 2,  $n_3$  es 1, y  $n_4$  es 1.

En una modalidad particular, el compuesto de Fórmula (I) es el Compuesto A:

5

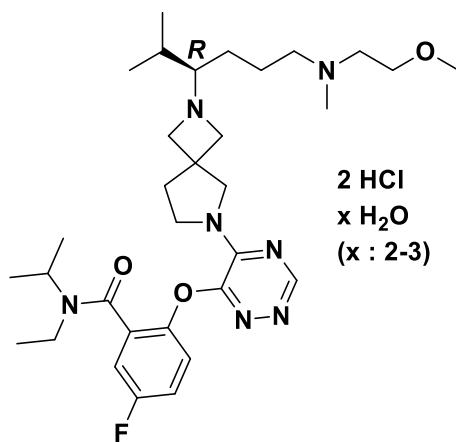


Compuesto A

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este.

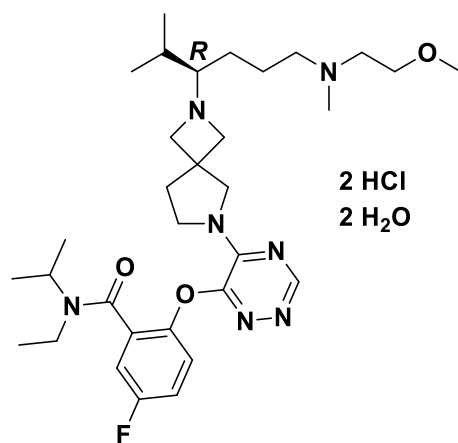
En una modalidad particular, el compuesto de Fórmula (I) es el Compuesto **A1**:

10



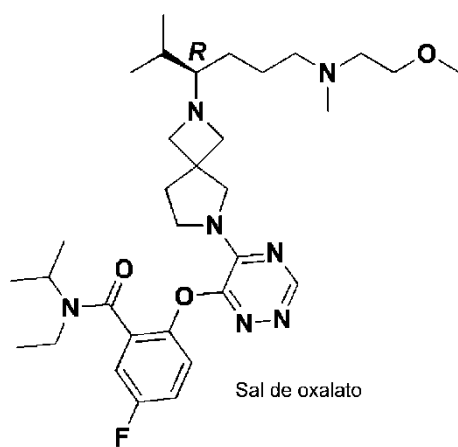
Compuesto **A1**.

En una modalidad particular, el compuesto de Fórmula (I) es el Compuesto **A2**:



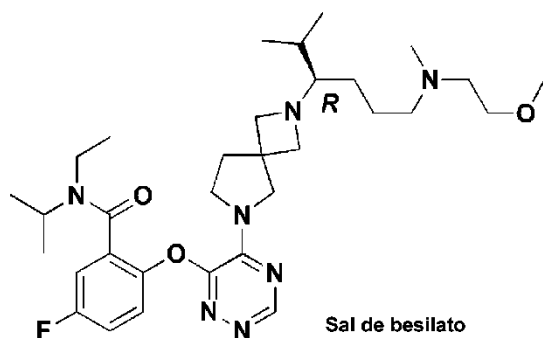
Compuesto **A2**.

5 En una modalidad particular, el compuesto de Fórmula (I) es el Compuesto **A3**:



Compuesto **A3**.

En una modalidad particular, el compuesto de Fórmula (I) es el Compuesto **A4-a**:

Compuesto **A4-a**

o un solvato de este.

En una modalidad particular, el inhibidor de menina-MLL de Fórmula (I) es sal de  
 5 besilato (*R*)-N-etil-5-fluoro-N-isopropil-2-((5-(2-(6-((2-metoxietil)(metil)amino)-2-metilhexan-3-il)-2,6-diazaespiro[3.4]octan-6-il)-1,2,4-triazin-6-il)oxi) benzamida o un hidrato de esta.

En una modalidad particular, el inhibidor de menina-MLL de Fórmula (I) es sal de bis-  
 besilato (*R*)-N-etil-5-fluoro-N-isopropil-2-((5-(2-(6-((2-metoxietil)(metil)amino)-2-metilhexan-3-il)-2,6-diazaespiro[3.4]octan-6-il)-1,2,4-triazin-6-il)oxi) benzamida o un solvato de esta.

10 En una modalidad particular, el inhibidor de menina-MLL de Fórmula (I) es sal de bis-besilato (*R*)-N-etil-5-fluoro-N-isopropil-2-(5-(2-(6-((2-metoxietil)(metil)amino) -2-metilhexan-3-il)-2,6-diazaespiro[3.4]octan-6-il)-1,2,4-triazin-6-il)oxi) benzamida (Compuesto **A4-b**) o un hidrato de esta.

En una modalidad particular, el inhibidor menina-MLL de Fórmula (I) es el  
 15 Compuesto **A4**: Forma cristalina A de sal de bis-besilato (*R*)-N-etil-5-fluoro-N-isopropil-2-((5-(2-(6-((2-metoxietil)(metil)amino) -2-metilhexan-3-il)-2,6-diazaespiro[3.4]octan-6-il)-1,2,4-triazin-6-il)oxi) benzamida hidrato.

En una modalidad particular, el inhibidor de menina-MLL de Fórmula (I) es una forma cristalina A de sal de bis-besilato (*R*)-N-etil-5-fluoro-N-isopropil-2-((5-(2-(6-((2-

metoxietil)(metil)amino)-2-metilhexan-3-il)-2,6-diazaespiro[3.4]octan-6-il)-1,2,4-triazin-6-il)oxi) benzamida 0,5-2,0 equivalentes hidrato.

En una modalidad, la presente invención se relaciona con un subgrupo de la Fórmula (I) como se define en las esquemas de reacción general.

5 En una modalidad, el compuesto de Fórmula (I) se selecciona del grupo que consiste en cualquiera de los compuestos, tautómeros y formas estereoisoméricas de estos ilustrados, y las bases libres, cualquier sal y los solvatos farmacéuticamente aceptables de estos.

En algunas modalidades, se proporciona una composición farmacéutica que  
10 comprende un portador farmacéuticamente aceptable, y como ingrediente activo, una cantidad terapéuticamente efectiva de una combinación como se describe en cualquiera de las otras modalidades.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende un inhibidor de la menina-MLL de la Fórmula (I), o una sal o un solvato  
15 farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es un agente hipometilante, un inhibidor de citidina deaminasa, un agente intercalante del ADN, un análogo de pirimidina, un análogo de purina, un inhibidor de quinasa, un inhibidor de CD20, un inhibidor de IDH, un agente inmunomodulador o un inhibidor de DHODH.

De acuerdo con las modalidades, el inhibidor de menina-MLL es un compuesto  
20 de Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este.

De acuerdo con modalidades particulares, el inhibidor de menina-MLL es el Compuesto **A** o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este.

De acuerdo con modalidades particulares, el inhibidor de menina-MLL es el Compuesto **A1**.

De acuerdo con modalidades particulares, el inhibidor de menina-MLL es el Compuesto **A2**.

De acuerdo con modalidades particulares, el inhibidor de menina-MLL es el Compuesto **A3**.

5 De acuerdo con modalidades particulares, el inhibidor de menina-MLL es el Compuesto **A4-a** o un solvato de este.

De acuerdo con modalidades particulares, el inhibidor de menina-MLL es el compuesto **A4-b** o un hidrato de este.

10 De acuerdo con modalidades particulares, el inhibidor de menina-MLL es el Compuesto **A4**.

En modalidades particulares, el inhibidor de menina-MLL puede tener propiedades mejoradas de estabilidad metabólica.

En modalidades particulares, el inhibidor de menina-MLL puede tener vida media (T1/2) *in vivo* extendida.

15 En modalidades particulares, el inhibidor de menina-MLL puede tener biodisponibilidad oral mejorada.

En modalidades particulares, el inhibidor de menina-MLL puede reducir el crecimiento tumoral, p. ej., los tumores que portan rearrreglos / alteraciones del gen de MLL (KMT2A) y/o mutaciones de NPM1.

20 En modalidades particulares, el inhibidor de la menina-MLL puede tener propiedades de PD mejoradas *in vivo* durante un periodo de tiempo prolongado, p. ej., inhibición de la expresión de genes diana tal como MEIS1 y regulación ascendente del marcador de diferenciación durante un periodo de al menos 16 horas.

En modalidades particulares, el inhibidor de menina-MLL puede tener un perfil de seguridad mejorado (p. ej., inhibición reducida de hERG; seguridad cardiovascular mejorada).

En modalidades particulares, el inhibidor de menina-MLL puede ser adecuado  
5 para la dosificación Q.D (una vez al día).

De acuerdo con las modalidades, al menos un otro agente terapéutico es un agente hipometilante, un inhibidor de citidina desaminasa, un agente intercalante del ADN, un análogo de pirimidina, un análogo de purina, un inhibidor de quinasa, un inhibidor de CD20, un inhibidor de IDH, un agente inmunomodulador o un inhibidor de DHODH.

10 De acuerdo con las modalidades, el agente hipometilante incluye, pero no se limita a, azacitidina, decitabina o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables de estos.

De acuerdo con las modalidades, el inhibidor de citidina desaminasa incluye, pero no se limita a, cedazuridina o sales farmacéuticamente aceptables o solvatos de este.

De acuerdo con las modalidades, el agente intercalante de ADN incluye, pero no  
15 se limita a, una antraciclina (p. ej., daunorrubicina, doxorubicina, idarrubicina).

De acuerdo con las modalidades, el agente intercalante de ADN es daunorrubicina.

De acuerdo con las modalidades, el agente intercalante del ADN es doxorubicina.

De acuerdo con las modalidades, el agente intercalante del ADN es idarrubicina.

De acuerdo con las modalidades, el análogo de pirimidina incluye, pero no se  
20 limita a, citarabina (ARA-C).

De acuerdo con las modalidades, el análogo de purina es fludarabina.

De acuerdo con las modalidades, el inhibidor de quinasa es un inhibidor de FLT-3, un inhibidor de BTK, un inhibidor de ABL, un inhibidor de Aurora o un inhibidor de múltiples quinasas de dos o más inhibidores de quinasa de este.

De acuerdo con las modalidades, el inhibidor de quinasa es un inhibidor de múltiples quinasas del inhibidor de FLT-3, inhibidor de ABL e inhibidor de Aurora. De acuerdo con las modalidades, dicho inhibidor de múltiples quinasas incluye, pero no se limita a, KW-2449,

De acuerdo con las modalidades, el inhibidor de quinasa es un inhibidor de  
5 tirosina quinasa.

De acuerdo con las modalidades, el inhibidor de tirosina quinasa es un inhibidor de FLT-3 o un inhibidor de BTK.

De acuerdo con las modalidades, el inhibidor de FLT3 incluye, pero no se limita a, sorafenib, sunitinib, midostaurina (PKC412), lestaurtinib (CEP-701), tandutinib  
10 (MLN518), quizartinib (AC220), gilteritinib (ASP2215) y KW-2449.

De acuerdo con las modalidades, el inhibidor de FLT3 es gilteritinib (ASP2215).

De acuerdo con las modalidades, el inhibidor de FLT3 es midostaurina (PKC412).

De acuerdo con las modalidades, el inhibidor de BTK incluye, pero no se limita a, ibrutinib.

15 De acuerdo con las modalidades, el inhibidor de CD20 incluye, pero no se limita a, un anticuerpo anti-CD20 (p. ej., obinutuzumab (GA101)).

De acuerdo con las modalidades, el inhibidor de IDH incluye, pero no se limita a, ivosidenib y enasidenib.

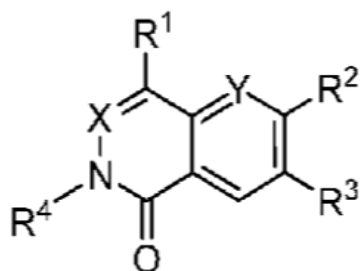
De acuerdo con las modalidades, el inhibidor de la isocitrato deshidrogenasa-1  
20 incluye, pero no se limita a, ivosidenib.

De acuerdo con las modalidades, el inhibidor de la isocitrato deshidrogenasa-2 incluye, pero no se limita a, enasidenib.

De acuerdo con las modalidades, el agente inmunomodulador incluye, pero no se limita a, inhibidores de PD-1 (p. ej., nivolumab, atezolizumab y pembrolizumab), talidomida, lenalidomida, pomalidomida, bacillus Calmette–Guérin (BCG) y levamisol.

De acuerdo con las modalidades, el inhibidor de PD-1 incluye, pero no se limita a, nivolumab, atezolizumab y pembrolizumab.

De acuerdo con las modalidades, el inhibidor de DHODH incluye, pero no se limita a, un compuesto que tiene la estructura de Fórmula (Z):



(Z), en donde

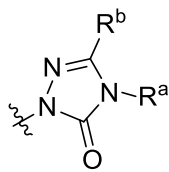
10

X es CH o N;

Y es CH o N;

R¹ se selecciona del grupo que consiste en: alquilo C<sub>1-6</sub>; alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido con OH, u OCH<sub>3</sub>; alquenilo C<sub>2-6</sub>; haloalquilo C<sub>1-6</sub>; haloalquilo C<sub>1-6</sub> sustituido con OH, u OCH<sub>3</sub>; haloalquenilo C<sub>2-6</sub>; N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>; cicloalquilo C<sub>3-6</sub>; cicloalquilo C<sub>3-6</sub> sustituido con alquilo C<sub>1-6</sub>; y fenilo;

15



R² es ; en donde

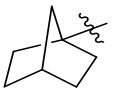
$R^a$  se selecciona del grupo que consiste en: alquilo  $C_{1-6}$ , haloalquilo  $C_{1-6}$ , y cicloalquilo  $C_{3-6}$ ;

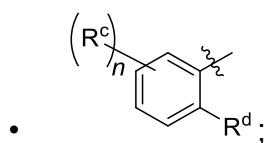
$R^b$  es alquilo  $C_{1-6}$  o alquilo  $C_{1-6}$  sustituido con un miembro seleccionado del grupo que consiste en: OH, halo, CN, Oalquilo  $C_{1-6}$ , Ohaloalquilo  $C_{1-6}$  y Ocicloalquilo  $C_{3-6}$ ;

5  $R^3$  se selecciona del grupo que consiste en: H, halo,  $CH_3$  y  $OCH_3$ ;

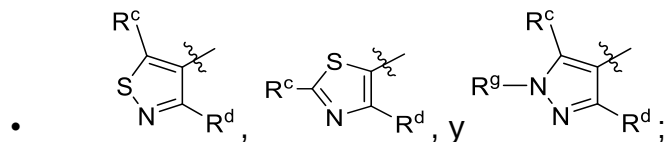
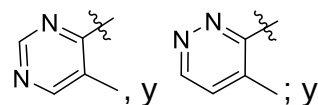
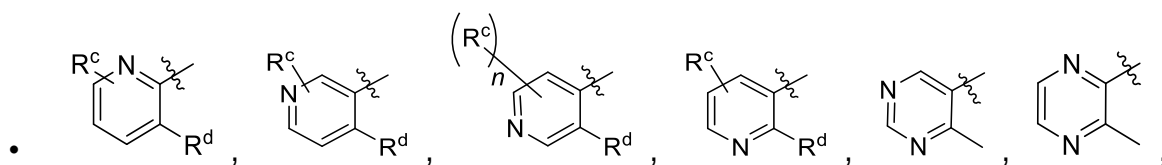
$R^4$  se selecciona del grupo que consiste en:

- alquilo  $C_{1-6}$ ; alquilo  $C_{1-6}$  sustituido con uno o dos  $OCH_3$ ; cicloalquilo  $C_{3-6}$ ;

cicloalquilo  $C_{3-6}$  sustituido con  $CH_3$  u  $OCH_3$ ;  $CH_2$ -cicloalquilo  $C_{3-6}$ ; y  ;



10



en donde

cada  $R^c$  se selecciona independientemente del grupo que consiste en: H; halo;

15 alquilo  $C_{1-6}$ ; alquilo  $C_{1-6}$  sustituido con un miembro seleccionado del grupo que consiste en: OH,  $OCH_3$ ,  $SCH_3$ , y  $OCF_3$ ; haloalquilo  $C_{1-6}$ ; haloalquilo  $C_{1-6}$

sustituido con un miembro seleccionado del grupo que consiste en: OH, y OCH<sub>3</sub>;

NO<sub>2</sub>; OH; O-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH; y O alquilo C<sub>1-6</sub>;

R<sup>d</sup> se selecciona del grupo que consiste en: H; halo; alquilo C<sub>1-6</sub>; alquilo C<sub>1-6</sub>

sustituido con un miembro seleccionado del grupo que consiste en: OH, OCH<sub>3</sub>,

5 SCH<sub>3</sub>, y OCF<sub>3</sub>; haloalquilo C<sub>1-6</sub>; haloalquilo C<sub>1-6</sub> sustituido con un miembro

seleccionado del grupo que consiste en: OH, y OCH<sub>3</sub>; CN; y O alquilo C<sub>1-6</sub>;

R<sup>g</sup> se selecciona del grupo que consiste en: H; alquilo C<sub>1-6</sub>; alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido

con un miembro seleccionado del grupo que consiste en: OH, OCH<sub>3</sub>, SCH<sub>3</sub>, y

OCF<sub>3</sub>; haloalquilo C<sub>1-6</sub>; y haloalquilo C<sub>1-6</sub> sustituido con un miembro

10 seleccionado del grupo que consiste en: OH, y OCH<sub>3</sub>; y

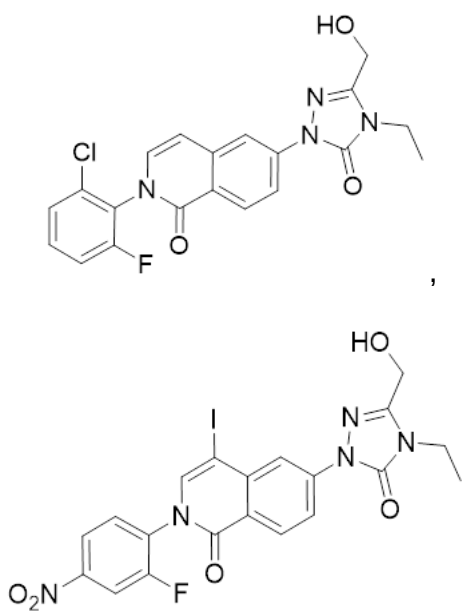
*n* es 1, o 2;

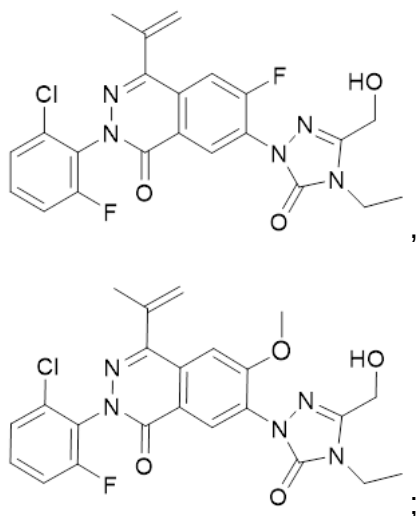
o una sal, isótopo, N-óxido, solvato, o estereoisómero farmacéuticamente aceptable

de este.

o un compuesto seleccionado de

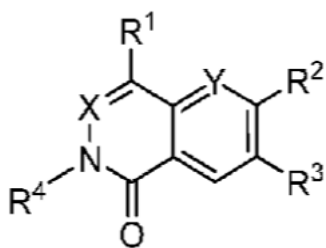
15





o una sal, N-óxido, solvato, o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de este.

- 5 De acuerdo con las modalidades, el inhibidor de DHODH incluye, pero no se limita a, un compuesto que tiene la estructura de Fórmula (Z):



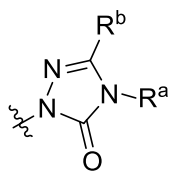
(Z), en donde

10 X es CH o N;

Y es CH o N;

R<sup>1</sup> se selecciona del grupo que consiste en: alquilo C<sub>1-6</sub>; alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido con OH, u OCH<sub>3</sub>; alquenilo C<sub>2-6</sub>; haloalquilo C<sub>1-6</sub>; haloalquilo C<sub>1-6</sub> sustituido con OH, u OCH<sub>3</sub>; haloalquenilo C<sub>2-6</sub>; N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>; cicloalquilo C<sub>3-6</sub>; cicloalquilo C<sub>3-6</sub> sustituido con alquilo C<sub>1-6</sub>; y fenilo;

15



$R^2$  es ; en donde

$R^a$  se selecciona del grupo que consiste en: alquilo  $C_{1-6}$ , haloalquilo  $C_{1-6}$ , y cicloalquilo  $C_{3-6}$ ;

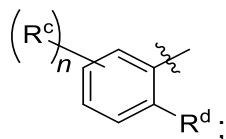
$R^b$  es alquilo  $C_{1-6}$  o alquilo  $C_{1-6}$  sustituido con un miembro seleccionado del grupo que consiste en: OH, halo, CN, Oalquilo  $C_{1-6}$ , Ohaloalquilo  $C_{1-6}$  y Ocicloalquilo  $C_{3-6}$ ;

$R^3$  se selecciona del grupo que consiste en: H, halo,  $CH_3$  y  $OCH_3$ ;

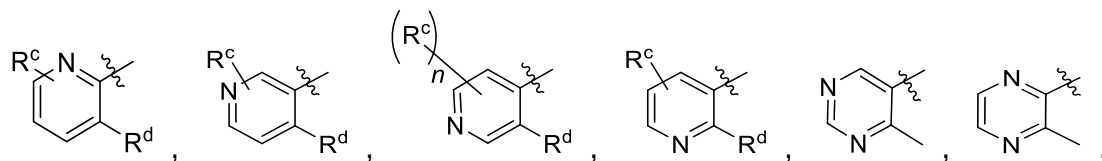
$R^4$  se selecciona del grupo que consiste en:

- alquilo  $C_{1-6}$ ; alquilo  $C_{1-6}$  sustituido con uno o dos  $OCH_3$ ; cicloalquilo  $C_{3-6}$ ;

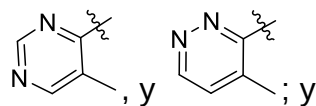
cicloalquilo  $C_{3-6}$  sustituido con  $CH_3$  u  $OCH_3$ ;  $CH_2$ -cicloalquilo  $C_{3-6}$ ; y  ;



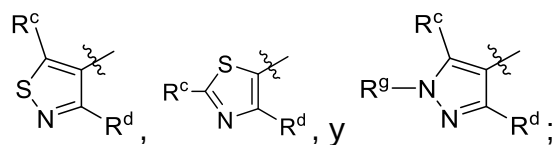
•



•



•



en donde

cada  $R^c$  se selecciona independientemente del grupo que consiste en: H; halo; alquilo  $C_{1-6}$ ; alquilo  $C_{1-6}$  sustituido con un miembro seleccionado del grupo que consiste en: OH,  $OCH_3$ ,  $SCH_3$ , y  $OCF_3$ ; haloalquilo  $C_{1-6}$ ; haloalquilo  $C_{1-6}$  sustituido con un miembro seleccionado del grupo que consiste en: OH, y  $OCH_3$ ;  
 5  $NO_2$ ; OH;  $O-CH_2CH_2OH$ ; y O alquilo  $C_{1-6}$ ;

$R^d$  se selecciona del grupo que consiste en: H; halo; alquilo  $C_{1-6}$ ; alquilo  $C_{1-6}$  sustituido con un miembro seleccionado del grupo que consiste en: OH,  $OCH_3$ ,  $SCH_3$ , y  $OCF_3$ ; haloalquilo  $C_{1-6}$ ; haloalquilo  $C_{1-6}$  sustituido con un miembro seleccionado del grupo que consiste en: OH, y  $OCH_3$ ; CN; y O alquilo  $C_{1-6}$ ;

10  $R^g$  se selecciona del grupo que consiste en: H; alquilo  $C_{1-6}$ ; alquilo  $C_{1-6}$  sustituido con un miembro seleccionado del grupo que consiste en: OH,  $OCH_3$ ,  $SCH_3$ , y  $OCF_3$ ; haloalquilo  $C_{1-6}$ ; y haloalquilo  $C_{1-6}$  sustituido con un miembro seleccionado del grupo que consiste en: OH, y  $OCH_3$ ; y

$n$  es 1, o 2;

15 o una sal, isótopo, N-óxido, solvato, o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de este.

En el contexto de la Fórmula (Z) se aplican las siguientes definiciones:

El término “alquenilo” incluye grupos alifáticos insaturados análogos en longitud y posible sustitución a los alquilos descritos anteriormente, pero que contienen al menos un enlace doble. Por ejemplo, el término “alquenilo” incluye grupos alquenilo de cadena  
 20 lineal (p. ej., etenilo, propenilo, butenilo, pentenilo, hexenilo, heptenilo, octenilo, nonenilo, decenilo, etc.). El término alquenilo incluye además grupos alquenilo que incluyen átomos de oxígeno, nitrógeno, azufre o fósforo que reemplazan uno o más carbonos de la cadena principal de hidrocarburo. En ciertas modalidades, un grupo

alqueno de cadena lineal o ramificada tiene 6 átomos de carbono o menos en su cadena principal (p. ej., C<sub>2-6</sub> para cadena lineal, C<sub>3-6</sub> para cadena ramificada).

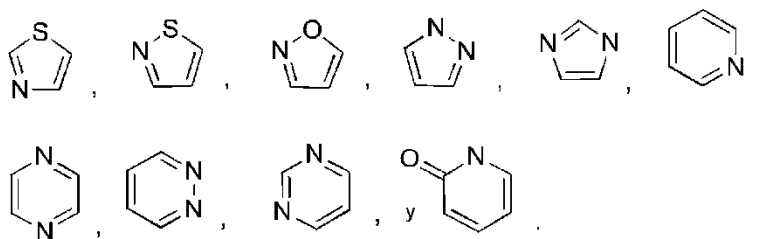
El término “haloalquilo” se refiere a un grupo alquilo de cadena recta o ramificada que tiene de 1 a 6 átomos de carbono en la cadena, y los hidrógenos están sustituidos 5 opcionalmente por halógenos. El término “haloalquilo C<sub>1-6</sub>” como se usa en la presente descripción se refiere a un grupo alquilo de cadena recta o ramificada que tiene de 1 a 6 átomos de carbono en la cadena, opcionalmente con sustitución de hidrógenos con halógenos. El término “haloalquilo C<sub>1-4</sub>” como se usa en la presente descripción se refiere a un grupo alquilo de cadena recta o ramificada que tiene de 1 a 4 átomos de carbono en la 10 cadena, opcionalmente con sustitución de hidrógenos con halógenos. Los ejemplos de grupos “haloalquilo” incluyen trifluorometilo (CF<sub>3</sub>), difluorometilo (CF<sub>2</sub>H), monofluorometilo (CH<sub>2</sub>F), pentafluoroetilo (CF<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>), tetrafluoroetilo (CHFCH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>), monofluoroetilo (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>F), trifluoroetilo (CH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>), tetrafluorotetrafluorometiletilo (-CF(CF<sub>3</sub>)<sub>2</sub>) y grupos que, según la experiencia en la técnica y las enseñanzas provistas en la presente descripción, se 15 considerarían equivalentes a cualquiera de los ejemplos anteriores.

El término “haloalqueno” incluye grupos alifáticos insaturados análogos en longitud y posible sustitución a los alquenos descritos anteriormente, pero que contienen al menos un enlace doble y que tienen de 1 a 6 átomos de carbono en la cadena, opcionalmente con sustitución de hidrógenos por halógenos.

20 El término “arilo” se refiere a un carbociclo aromático, monocíclico (estructura anular que tiene átomos anulares que son todos carbono) que tiene 6 átomos por anillo. (Los átomos de carbono en los grupos arilo son sp<sup>2</sup> hibridados).

El término “heteroarilo” se refiere a un heterociclo bicíclico fusionado (estructura anular con átomos anulares seleccionados de átomos de carbono y hasta cuatro

heteroátomos seleccionados de nitrógeno, oxígeno y azufre) que tienen de 3 a 9 átomos anulares por heterociclo. Como ejemplos ilustrativos de grupos de heteroarilos se incluyen las siguientes entidades, bajo la forma de entidades enlazadas adecuadamente:

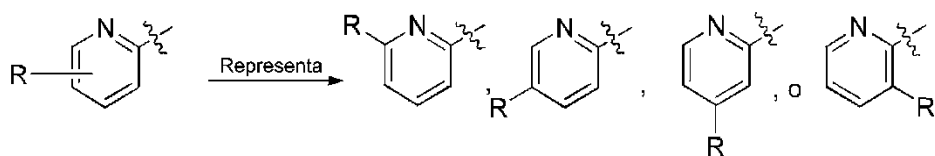


5

Los expertos en la técnica reconocerán que las especies enumeradas o ilustradas anteriormente no son exhaustivas y que también pueden seleccionarse especies adicionales dentro del alcance de estos términos definidos.

El término “punto variable de unión” significa que se permite que un grupo se una a más de una posición alternativa en una estructura. El acoplamiento siempre reemplazará un átomo de hidrógeno en uno de los átomos del anillo. En otras palabras, todas las permutaciones de enlace se representan mediante el diagrama único, como se muestra en las ilustraciones más abajo.

15



En una modalidad de la invención, el inhibidor de DHODH es un compuesto de Fórmula (Z), en donde X es CH.

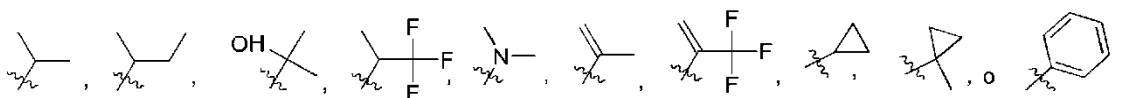
En una modalidad de la invención, el inhibidor de DHODH es un compuesto de Fórmula (Z), en donde X es N.

En una modalidad de la invención, el inhibidor de DHODH es un compuesto de Fórmula (Z), en donde Y es CH.

5 En una modalidad de la invención, el inhibidor de DHODH es un compuesto de Fórmula (Z), en donde Y es N.

En una modalidad de la invención, el inhibidor de DHODH es un compuesto de Fórmula (Z), en donde R<sup>1</sup> es alquilo C<sub>1-4</sub>; alquilo C<sub>1-4</sub> sustituido con OH, u OCH<sub>3</sub>; alquenilo C<sub>2-4</sub>; haloalquilo C<sub>1-4</sub>; haloalquilo C<sub>1-4</sub> sustituido con OH, u OCH<sub>3</sub>; haloalquenilo  
10 C<sub>2-4</sub>; N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>; ciclopropilo; ciclopropilo sustituido con alquilo C<sub>1-4</sub>; o fenilo.

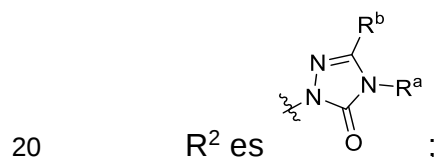
En una modalidad de la invención, el inhibidor de DHODH es un compuesto de Fórmula (Z), en donde R<sup>1</sup> es CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>,



15 En una modalidad de la invención, el inhibidor de DHODH es un compuesto de

Fórmula (Z), en donde R<sup>1</sup> es .

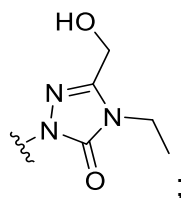
En una modalidad de la invención, el inhibidor de DHODH es un compuesto de Fórmula (Z) en donde:



en donde  $R^b$  es alquilo  $C_{1-4}$  sustituido con OH, halo, CN, alquilo  $OC_{1-4}$ , haloalquilo  $OC_{1-4}$  o cicloalquilo  $OC_{3-6}$ ; y

$R^a$  es alquilo  $C_{1-4}$ , haloalquilo  $C_{1-4}$  o cicloalquilo  $C_{3-6}$ .

En una modalidad de la invención, el inhibidor de DHODH es un compuesto de



5 Fórmula (Z) en donde  $R^2$  es ;

En una modalidad de la invención, el inhibidor de DHODH es un compuesto de Fórmula (Z) en donde  $R^3$  es H.

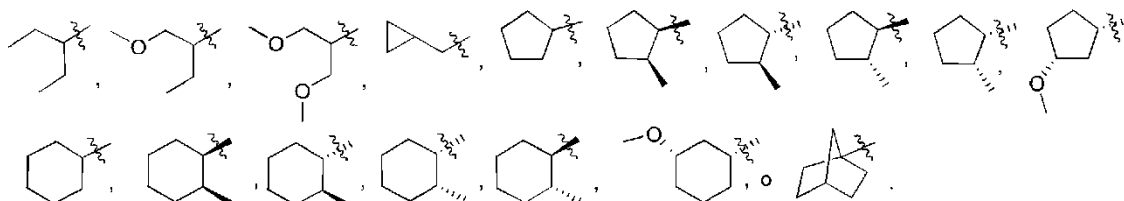
En una modalidad de la invención, el inhibidor de DHODH es un compuesto de Fórmula (Z) en donde  $R^3$  es F.

10 En una modalidad de la invención, el inhibidor de DHODH es un compuesto de Fórmula (Z) en donde  $R^3$  es  $CH_3$ .

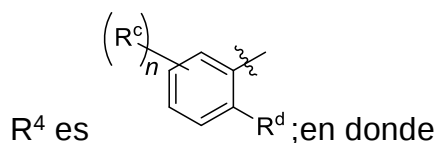
En una modalidad de la invención, el inhibidor de DHODH es un compuesto de Fórmula (Z) en donde  $R^3$  es  $OCH_3$ .

En una modalidad de la invención, el inhibidor de DHODH es un compuesto de

15 Fórmula (Z) en donde  $R^4$  es



En una modalidad de la invención, el inhibidor de DHODH es un compuesto de Fórmula (Z) en donde:



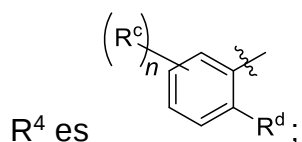
cada  $R^c$  se selecciona independientemente del grupo que consiste en: H; halo;

- 5 alquilo  $C_{1-4}$ ; alquilo  $C_{1-}$  sustituido con un miembro seleccionado del grupo que consiste en: OH,  $OCH_3$ ,  $SCH_3$ , y  $OCF_3$ ; haloalquilo  $C_{1-4}$ ; haloalquilo  $C_{1-4}$  sustituido con un miembro seleccionado del grupo que consiste en: OH, y  $OCH_3$ ; y  $NO_2$ ;

- $R^d$  se selecciona del grupo que consiste en: H; halo; alquilo  $C_{1-4}$ ; alquilo  $C_{1-4}$  sustituido con OH,  $OCH_3$ ,  $SCH_3$ , u  $OCF_3$ ; haloalquilo  $C_{1-4}$ ; haloalquilo  $C_{1-4}$  sustituido con  
10 OH, u  $OCH_3$ ; u Oalquilo  $C_{1-4}$ ; CN; y O alquilo  $C_{1-6}$ ; y

$n$  es 1, o 2.

En una modalidad de la invención, el inhibidor de DHODH es un compuesto de Fórmula (Z) en donde:

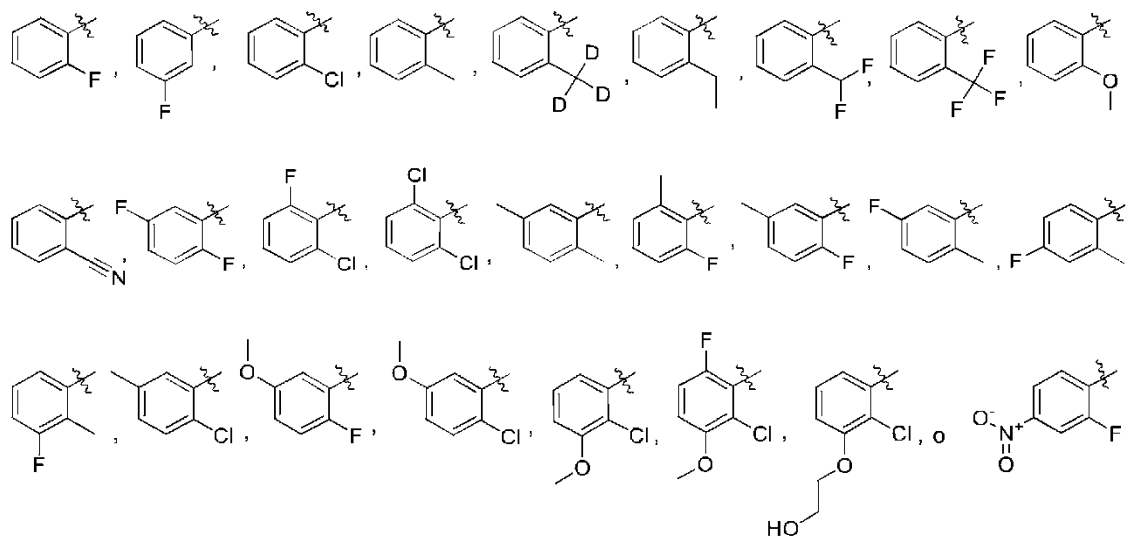


- 15 cada  $R^c$  se selecciona independientemente del grupo que consiste en: H, halo, alquilo  $C_{1-4}$ , haloalquilo  $C_{1-4}$ ,  $NO_2$ ,  $O-CH_2CH_2OH$ , y Oalquilo  $C_{1-4}$ ;

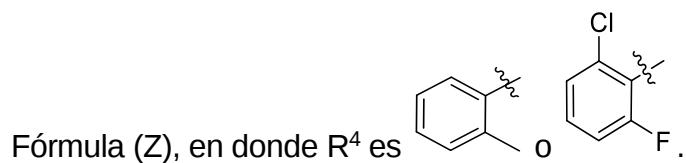
$R^d$  se selecciona del grupo que consiste en: H, halo, alquilo  $C_{1-4}$ , CN, y Oalquilo  $C_{1-6}$ ; y

$n$  es 1, o 2.

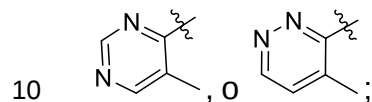
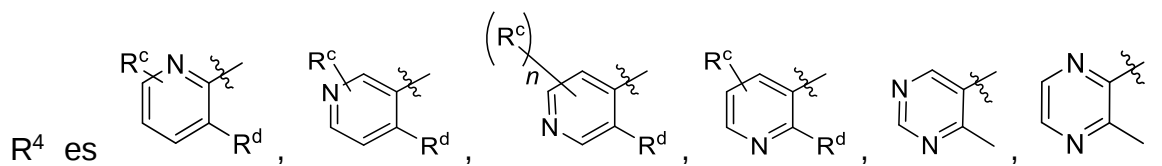
- 20 En una modalidad de la invención, el inhibidor de DHODH es un compuesto de Fórmula (Z) en donde  $R^4$  es



5 En una modalidad de la invención, el inhibidor de DHODH es un compuesto de

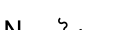


En una modalidad de la invención, el inhibidor de DHODH es un compuesto de  
Fórmula (Z) en donde:



en donde

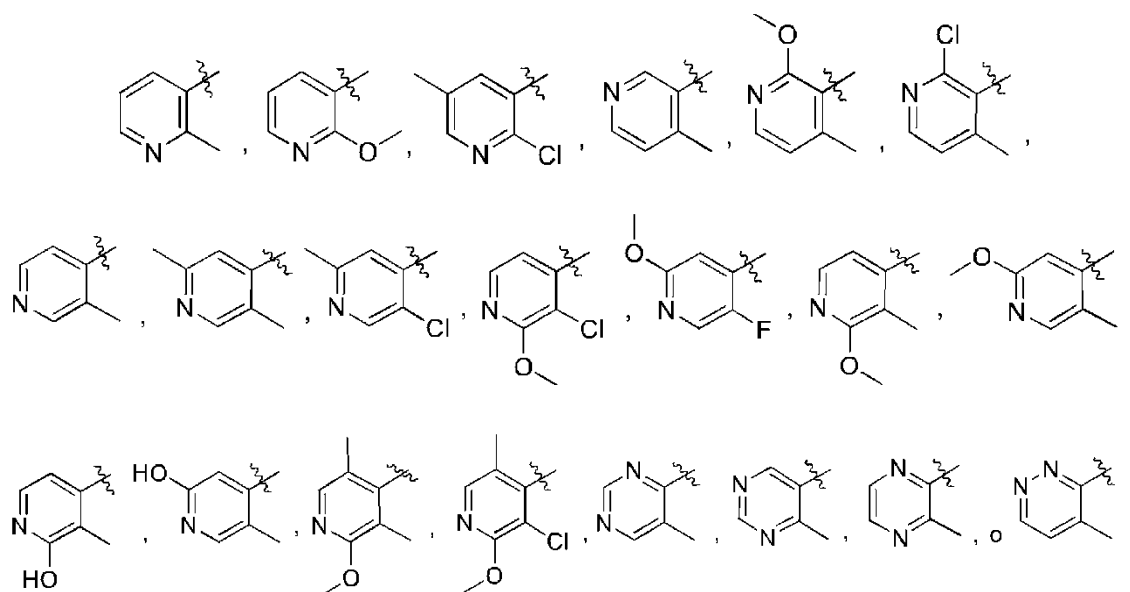
cada  $R^c$  se selecciona independientemente del grupo que consiste en: H; halo;  
alquilo  $C_{1-4}$ ; alquilo  $C_{1-}$  sustituido con un miembro seleccionado del grupo que  
consiste en: OH,  $OCH_3$ ,  $SCH_3$ , y  $OCF_3$ ; haloalquilo  $C_{1-4}$ ; haloalquilo  $C_{1-4}$

$R^4$  es , , , , , ,

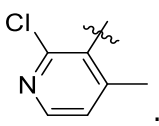
En una modalidad de la invención, el inhibidor de DHODH es un compuesto de Fórmula (Z) en donde R<sup>4</sup> es

15

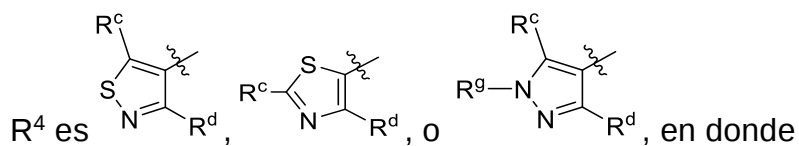




5 En una modalidad de la invención, el inhibidor de DHODH es un compuesto de

la Fórmula (Z) en donde  $R^4$  es .

En una modalidad de la invención, el inhibidor de DHODH es un compuesto de  
Fórmula (Z) en donde:



10  $R^c$  es H; halo; alquilo  $C_{1-4}$ ; alquilo  $C_{1-4}$  sustituido con OH,  $OCH_3$ ,  $SCH_3$ , u  $OCF_3$ ;

haloalquilo  $C_{1-4}$ ; haloalquilo  $C_{1-4}$  sustituido con OH, u  $OCH_3$ ; u Oalquilo  $C_{1-4}$ ;

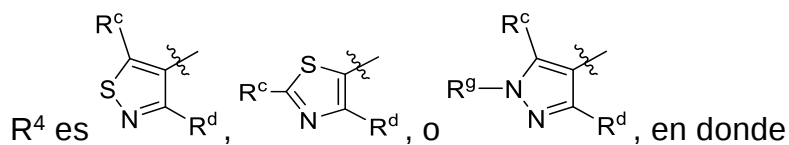
$R^d$  es halo; alquilo  $C_{1-4}$ ; alquilo  $C_{1-4}$  sustituido con OH,  $OCH_3$ ,  $SCH_3$ , u  $OCF_3$ ;

haloalquilo  $C_{1-4}$ ; o haloalquilo  $C_{1-4}$  sustituido con OH, u  $OCH_3$ ; y

$R^g$  es H; alquilo  $C_{1-4}$ ; alquilo  $C_{1-4}$  sustituido con OH,  $OCH_3$ ,  $SCH_3$ , u  $OCF_3$ ;

15 haloalquilo  $C_{1-4}$ ; o haloalquilo  $C_{1-4}$  sustituido con OH, u  $OCH_3$ .

En una modalidad de la invención, el inhibidor de DHODH es un compuesto de  
Fórmula (Z) en donde:

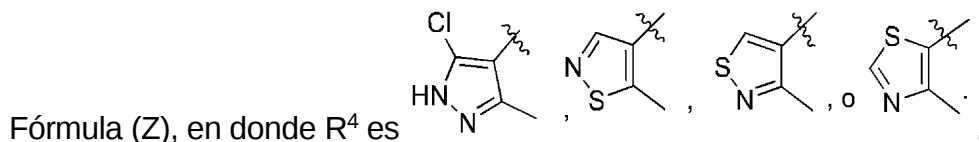


$R^c$  es H o halo;

5  $R^d$  es alquilo  $C_{1-4}$ ; y

$R^g$  es H.

En una modalidad de la invención, el inhibidor de DHODH es un compuesto de



En una modalidad de la invención, el inhibidor de DHODH es un compuesto de

10 Fórmula (Z) seleccionado del grupo que consiste en:

6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-2-(3 fluorofenil)-  
4-(prop-1-en-2-il)isoquinolin-1(2H)-ona;

6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-2-(3-fluorofenil)-  
4-isopropilisoquinolin-1(2H)-ona;

15 2-(2-cloro-6-fluorofenil)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-  
triazol-1-il)-4-isopropilisoquinolin-1(2H)-ona;

6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-2-(3-  
fluorofenilo)-4-fenilisoquinolin-1(2H)-ona;

20 2-(2-cloro-6-fluorofenil)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-  
triazol-1-il)-4-(prop-1-en-2-il)isoquinolin-1(2H)-ona;

2-(2-cloro-6-fluorofenil)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-4-(3,3,3-trifluoroprop-1-en-2-il)isoquinolin-1(2H)-ona;

2-(2,6-diclorofenil)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-4-(1-metilciclopropil)isoquinolin-1 (2H)-ona;

5        2-(2,6-diclorofenil)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-4-(prop-1-en-2-il)isoquinolin-1(2H)-ona;

2-(2-cloro-6-fluorofenil)-4-ciclopropil-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)isoquinolin-1(2H)-ona;

10       2-(2-cloro-6-fluorofenil)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropilisoquinolin-1(2H)-ona;

6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-4-(prop-1-en-2-il)-2-(2-(trifluorometil)fenil)isoquinolin-1(2H)-ona;

2-(6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-1-oxo-4-(prop-1-en-2-il) isoquinolin-2(1H)-il)benzonitrilo;

15       2-(2-clorofenilo)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-4-(prop-1-en-2-il)isoquinolin-1(2H)-ona;

6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-4-(prop-1-en-2-il)-2-(o-tolil)isoquinolin-1(2H)-ona;

20       2-(2-clorofenil)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-4-isopropilftalazin-1(2H)-ona;

6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-2-(3-fluorofenil)-4-isopropilftalazin-1(2H)-ona;

2-(2-cloro-6-fluorofenil)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-4-isopropilftalazin-1(2H)-ona;

4-etil-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-2-(3-fluorofenil)ftalazin-1(2H)-ona;

4-etil-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-2-(o-tolil)ftalazin-1(2H)-ona;

5 6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropil-2-(o-tolil)isoquinolin-1(2H)-ona;

2-(2-cloro-4-metilpiridin-3-il)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropilisoquinolin-1(2H)-ona;

10 2-(2-cloro-6-fluorofenil)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-4-(1-metilciclopropil)isoquinolin-1(2H)-ona;

6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-2-(3 fluorofenil)-4-(2-hidroxiopropan-2-il)isoquinolin-1(2H)-ona;

4-(dimetilamino)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-2-(o-tolil)isoquinolin-1(2H)-ona;

15 2-(2-cloro-6-fluorofenil)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-(prop-1-en-2-il)ftalazin-1(2H)-ona;

2-(2-cloro-6-fluorofenil)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-metoxi-4-(prop-1-en-2-il)ftalazin-1(2H)-ona;

20 2-(5-cloro-3-metil-1H-pirazol-4-il)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropilisoquinolin-1(2H)-ona;

2-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-3-fluoro-8-(prop-1-en-2-il)-6-(o-tolil)-1,6-naftiridin-5(6H)-ona;

2-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-3 fluoro-8-metil-6-(o-tolil) pirido[2,3-d]piridazin-5(6H)-ona;

2-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-3-fluoro-8-isopropilo-6-(*o*-tolil)pirido[2,3-*d*]piridazin-5(6*H*)-ona;

6-(2-cloro-6-fluorofenil)-2-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-3-fluoro-8-(prop-1-en-2-il)-1,6-naftiridin-5(6*H*)-ona;

5 6-(2-cloro-6-fluorofenil)-2-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-3-fluoro-8-isopropil-1,6-naftiridin-5(6*H*)-ona;

(*S*)-2-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-3-fluoro-6-(*o*-tolil)-8-(1,1,1-trifluoropropan-2-il)-1,6-naftiridin-5(6*H*)-ona;

10 (*R*)-2-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-3-fluoro-6-(*o*-tolil)-8-(1,1,1-trifluoropropan-2-il)-1,6-naftiridin-5(6*H*)-ona;

6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropil-2-(4-metiltiazol-5-il)isoquinolin-1(2*H*)-ona;

2-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-3-fluoro-8-isopropil-6-(*o*-tolil)-1,6-naftiridin-5(6*H*)-ona;

15 6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-2-(2-fluoro-5-metilfenil)-4-isopropilisoquinolin-1(2*H*)-ona;

6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-2-(2-fluoro-5-metilfenil)-4-(prop-1-en-2-il)isoquinolin-1(2*H*)-ona;

20 2-(2-cloro-5-metilfenil)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-(prop-1-en-2-il)isoquinolin-1(2*H*)-ona;

6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-2-(2-fluoro-5-metoxifenil)-4-(prop-1-en-2-il)isoquinolin-1(2*H*)-ona;

2-(2-clorofenil)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-(prop-1-en-2-il)isoquinolin-1(2*H*)-ona;

6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-(prop-1-en-2-il)-2-(o-tolil)isoquinolin-1(2H)-ona;

2-(2-cloro-5-metoxifenil)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-(prop-1-en-2-il)isoquinolin-1(2H)-ona;

5 4-(sec-butil)-2-(2-cloro-6-fluorofenil)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoroisoquinolin-1(2H)-ona racémica;

2-(3-cloro-6-metoxipiridin-2-il)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropilisoquinolin-1(2H)-ona;

10 6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropil-2-(2-metoxi-4-metilpiridin-3-il)isoquinolin-1(2H)-ona;

2-(2-cloro-6-fluoro-3-metoxifenil)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-(prop-1-en-2-il)isoquinolin-1(2H)-ona;

2-(2-cloro-6-fluorofenil)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-(prop-1-en-2-il)isoquinolin-1(2H)-ona;

15 6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropil-2-(o-tolil)ftalazin-1(2H)-ona;

2-(2-cloro-6-fluorofenil)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropilftalazin-1(2H)-ona;

20 6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-2-(o-tolil)-4-(1,1,1-trifluoropropan-2-il)ftalazin-1(2H)-ona racémica;

(S\*)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-2-(o-tolil)-4-(1,1,1-trifluoropropan-2-il)ftalazin-1(2H)-ona;

(R\*)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-2-(o-tolil)-4-(1,1,1-trifluoropropan-2-il)ftalazin-1(2H)-ona;

2-(2-cloro-6-fluorofenil)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-(1-metilciclopropil)isoquinolin-1(2H)-ona;

6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-2-(2-metoxi-4-metilpiridin-3-il)-4-(prop-1-en-2-il)isoquinolin-1(2H)-ona;

5 2-(5-cloro-3-metil-1H-pirazol-4-il)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-(prop-1-en-2-il)isoquinolin-1(2H)-ona;

2-(3-cloro-2-metoxi-5-metilpiridin-4-il)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropilisoquinolin-1(2H)-ona;

10 2-(3-cloro-2-metoxi-5-metilpiridin-4-il)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-(prop-1-en-2-il)isoquinolin-1(2H)-ona;

6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-2-(2-fluoro-5-metoxifenil)-4-isopropilisoquinolin-1(2H)-ona;

6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-2-(4-fluoro-2-metilfenil)-4-isopropilisoquinolin-1(2H)-ona;

15 2-(2-cloro-3-(2-hidroxietoxi)fenil)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-(prop-1-en-2-il)isoquinolin-1(2H)-ona;

6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-2-(2-fluorofenil)-4-(prop-1-en-2-il)isoquinolin-1(2H)-ona;

20 6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-2-(5-fluoro-2-metilfenil)-4-isopropilisoquinolin-1(2H)-ona;

2-(2,5-difluorofenil)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropilisoquinolin-1(2H)-ona;

6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-2-(2-fluoro-6-metilfenil)-4-isopropilisoquinolin-1(2H)-ona;

2-(2-cloro-3-metoxifenil)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-(prop-1-en-2-il)isoquinolin-1(2H)-ona;

6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-2-(2-metoxi-3,5-dimetilpiridin-4-il)-4-(prop-1-en-2-il)isoquinolin-1(2H)-ona;

5        2-(2,5difluorofenil)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-(prop-1-en-2-il)isoquinolin-1(2H)-ona;

6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-2-(2-fluoro-6-metilfenil)-4-(prop-1-en-2-il)isoquinolin-1(2H)-ona;

10       6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-2-(3-fluoro-2-metilfenil)-4-isopropilisoquinolin-1(2H)-ona;

2-(2,5-dimetilfenil)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropilisoquinolin-1(2H)-ona;

6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-2-(4-fluoro-2-metilfenil)-4-(prop-1-en-2-il)isoquinolin-1(2H)-ona;

15       6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-2-(2-fluorofenil)-4-isopropilisoquinolin-1(2H)-ona;

6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropil-2-(2-metoxi-3,5-dimetilpiridin-4-il)isoquinolin-1(2H)-ona;

20       6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-metil-4-(prop-1-en-2-il)-2-(o tolil)isoquinolin-1(2H)-ona;

2-(2-cloro-6-fluoro-3-metoxifenil)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropilisoquinolin-1(2H)-ona;

6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-2-(o-tolilo)-4-(3,3,3-trifluoroprop-1-en-2-il)isoquinolin-1(2H)-ona;

6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-2-(5-fluoro-2-metilfenil)-4-(prop-1-en-2-il)isoquinolin-1(2H)-ona;

6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-2-(2-metoxifenil)-4-(prop-1-en-2-il)isoquinolin-1(2H)-ona;

5 2-(2-cloro-5-metilpiridin-3-il)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-(prop-1-en-2-il)isoquinolin-1(2H)-ona;

6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-2-(5-fluoro-2-metoxipiridin-4-il)-4-(prop-1-en-2-il)isoquinolin-1(2H)-ona;

10 6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-2-(3-fluoro-2-metilfenil)-4-(prop-1-en-2-il)isoquinolin-1(2H)-ona;

2-(2,5-dimetilfenil)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-prop-1-en-2-il)isoquinolin-1(2H)-ona;

6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-2-(o-tolil)-4-(1,1,1-trifluoropropan-2-il)isoquinolin-1(2H)-ona racémica;

15 6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-2-(2-etilfenil)-7-fluoro-4-isopropilisoquinolin-1(2H)-ona;

6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropil-2-(2-metoxipiridin-3-il)isoquinolin-1(2H)-ona;

20 6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-2-(5-fluoro-2-metoxipiridin-4-il)-4-isopropilisoquinolin-1(2H)-ona;

2-(2-cloro-5-metilpiridin-3-il)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropilisoquinolin-1(2H)-ona;

6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropil-2-(2-(metil-d<sub>3</sub>)fenil)isoquinolin-1(2H)-ona;

6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropil-2-(4-methylpyrimidin-5-il)isoquinolin-1(2*H*)-ona;

6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropil-2-(2-metoxifenil)isoquinolin-1(2*H*)-ona;

5 6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-2-(3-fluoro-6-metoxipiridin-2-il)-4-isopropilisoquinolin-1(2*H*)-ona;

6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropil-2-(3-metilpirazin-2-il)isoquinolin-1(2*H*)-ona;

10 2-(2-cloro-5-metilpiridin-3-il)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropilisoquinolin-1(2*H*)-ona;

2-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-3-fluoro-6-(2-fluoro-5-metilfenil)-8-isopropil-1,6-naftiridin-5(6*H*)-ona;

6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropil-2-(4-metilpiridazin-3-il)isoquinolin-1(2*H*)-ona;

15 (S)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-2-(o-tolil)-4-(1,1,1-trifluoropropan-2-il)isoquinolin-1(2*H*)-ona;

(R)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-2-(o-tolil)-4-(1,1,1-trifluoropropan-2-il)isoquinolin-1(2*H*)-ona;

20 6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropil-2-(2-(trifluorometil)fenil)isoquinolin-1(2*H*)-ona;

6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropil-2-(5-metilpirimidin-4-il)isoquinolin-1(2*H*)-one;

2-(2-(difluorometil)fenil)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropilisoquinolin-1(2*H*)-ona;

2-(3-cloro-2-metoxipiridin-4-il)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropilisoquinolin-1(2*H*)-ona;

2-ciclohexil-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropilisoquinolin-1(2*H*)-ona;

5        2-(3-cloro-6-metilpiridin-2-il)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropilisoquinolin-1(2*H*)-ona;

2-ciclopentil-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropilisoquinolin-1(2*H*)-ona;

10       2-(3-cloro-4-metoxipiridin-2-il)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropilisoquinolin-1(2*H*)-ona;

6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropil-2-((1*R*,2*S*)-2-metilciclohexil)isoquinolin-1(2*H*)-ona;

2-(1,3-dimetoxipropan-2-il)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropilisoquinolin-1(2*H*)-ona;

15       6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropil-2-(2-metoxi-5-metilpiridin-4-il)isoquinolin-1(2*H*)-ona;

6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropil-2-((1*S*,2*R*)-2-metilciclohexil)isoquinolin-1(2*H*)-ona;

20       2-(ciclopropilmetil)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropilisoquinolin-1(2*H*)-ona;

6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropil-2-(1-metoxibutan-2-il)isoquinolin-1(2*H*)-ona;

2-(2-clorofenil)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropilisoquinolin-1(2*H*)-ona;

6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropil-2-(3-metilpiridin-2-il)isoquinolin-1(2*H*)-ona;

6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropil-2-((*cis*)-3-metoxiciclopentil)isoquinolin-1(2*H*)-ona racémica;

5 6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropil-2-((1*R*\*,2*R*\*)-2-metilciclohexil)isoquinolin-1(2*H*)-ona;

6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropil-2-((1*S*\*,2*S*\*)-2-metilciclohexil)isoquinolin-1(2*H*)-ona;

10 6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropil-2-(pentan-3-il)isoquinolin-1(2*H*)-ona;

6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropil-2-((1*R*\*,2*R*\*)-2-metilciclopentil)isoquinolin-1(2*H*)-ona;

6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropil-2-((1*S*\*,2*S*\*)-2-metilciclopentil)isoquinolin-1(2*H*)-ona;

15 6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropil-2-((1*R*\*,2*S*\*)-2-metilciclopentil)isoquinolin-1(2*H*)-ona;

6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropil-2-((1*S*\*,2*R*\*)-2-metilciclopentil)isoquinolin-1(2*H*)-ona;

20 6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropil-2-((*cis*)-3-metoxiciclohexil)isoquinolin-1(2*H*)-ona racémica;

2-(biciclo[2.2.1]heptan-1-il)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*,1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropilisoquinolin-1(2*H*)-ona;

6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropil-2-(2-metoxi-3-metilpiridin-4-il)isoquinolin-1(2*H*)-ona;

2-(4-etil-3-hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-3-fluoro-8-isopropil-6-(2-metoxifenil)-1,6-naftiridin-5(6*H*)-ona;

6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropil-2-(3-metilisotiazol-4-il)isoquinolin-1(2*H*)-ona;

5 6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropil-2-(5-metilisotiazol-4-il)isoquinolin-1(2*H*)-ona;

2-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-3-fluoro-8-isopropil-6-(2-(trifluorometil)fenil)-1,6-naftiridin-5(6*H*)-ona;

10 2-(3,6-dimetilpiridin-2-il)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropilisoquinolin-1(2*H*)-ona;

2-(2,5-dimetilpiridin-4-il)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropilisoquinolin-1(2*H*)-ona;

6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropil-2-(4-metilpiridin-3-il)isoquinolin-1(2*H*)-ona;

15 6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropil-2-(3-metilpiridin-4-il)isoquinolin-1(2*H*)-ona;

6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropil-2-(2-metilpiridin-3-il)isoquinolin-1(2*H*)-ona;

20 6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-2-(2-hidroxi-5-metilpiridin-4-il)-4-isopropilisoquinolin-1(2*H*)-ona;

6-(2-(difluorometil)fenil)-2-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-3-fluoro-8-isopropil-1,6-naftiridin-5(6*H*)-ona;

6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-2-(2-hidroxi-3-metilpiridin-4-il)-4-isopropilisoquinolin-1(2*H*)-ona; y

2-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-3-fluoro-8-isopropil-6-(*o*-D<sub>3</sub>-tolil)-1,6-naftiridin-5(6*H*)-ona;

o una sal, isótopo, N-óxido, solvato, o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de este. o un compuesto seleccionado de

5 2-(2-cloro-6-fluorofenil)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)isoquinolin-1(2*H*)-ona;

6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-2-(2-fluoro-4-nitrofenil)-4-yodoisoquinolin-1(2*H*)-ona;

10 2-(2-cloro-6-fluorofenil)-7-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-6-fluoro-4-(prop-1-en-2-il)ftalazin-1(2*H*)-ona;

2-(2-cloro-6-fluorofenil)-7-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-6-metoxi-4-(prop-1-en-2-il)ftalazin-1(2*H*)-ona;

o una sal, N-óxido, solvato, o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de este.

En una modalidad de la invención, el inhibidor de DHODH es un compuesto de

15 Fórmula (Z) seleccionado del grupo que consiste en:

2-(2-cloro-6-fluorofenil)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropilisoquinolin-1(2*H*)-ona;

6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropil-2-(*o*-tolil)isoquinolin-1(2*H*)-ona;

20 2-(2-cloro-4-metilpiridin-3-il)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropilisoquinolin-1(2*H*)-ona;

2-(2-cloro-6-fluorofenil)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-4-(1-metilciclopropil)isoquinolin-1(2*H*)-ona;

2-(2-cloro-6-fluorofenil)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-(prop-1-en-2-il)ftalazin-1(2H)-ona;

2-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-3-fluoro-8-isopropil-6-(o-tolil)-1,6-naftiridin-5(6H)-ona;

5 6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropil-2-(o-tolil)ftalazin-1(2H)-ona;

2-(2-cloro-6-fluorofenil)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropilftalazin-1(2H)-ona;

10 6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropil-2-(2-(metil-d3)fenil)isoquinolin-1(2H)-ona;

(R)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-2-(o-tolil)-4-(1,1,1-trifluoropropan-2-il)isoquinolin-1(2H)-ona;

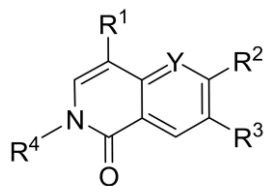
6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropil-2-(2-(trifluorometil)fenil)isoquinolin-1(2H)-ona; y

15 2-(2-(difluorometil)fenil)-6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropilisoquinolin-1(2H)-ona;

o una sal, isótopo, N-óxido, solvato, o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de este.

20 En una modalidad de la invención, el inhibidor de DHODH es 6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropil-2-(o-tolil)isoquinolin-1(2H)-ona o una sal, solvato, estereoisómero, variante isotópica, o N-óxido farmacéuticamente aceptable de este.

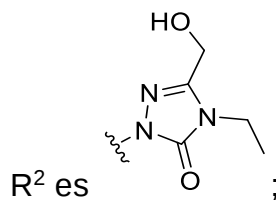
En una modalidad de la invención, el inhibidor de DHODH es un compuesto de Fórmula (Z) que tiene la Fórmula (Za):



(Za), en donde

Y es CH o N;

R<sup>1</sup> se selecciona del grupo que consiste en: alquilo C<sub>1-6</sub>; alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido  
 5 con OH, u OCH<sub>3</sub>; alquenilo C<sub>2-6</sub>; haloalquilo C<sub>1-6</sub>; haloalquilo C<sub>1-6</sub> sustituido con OH, u  
 OCH<sub>3</sub>; haloalquenilo C<sub>2-6</sub>; N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>; cicloalquilo C<sub>3-6</sub>; cicloalquilo C<sub>3-6</sub> sustituido con  
 alquilo C<sub>1-6</sub>; y fenilo;

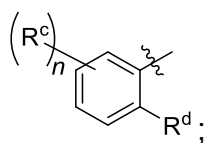


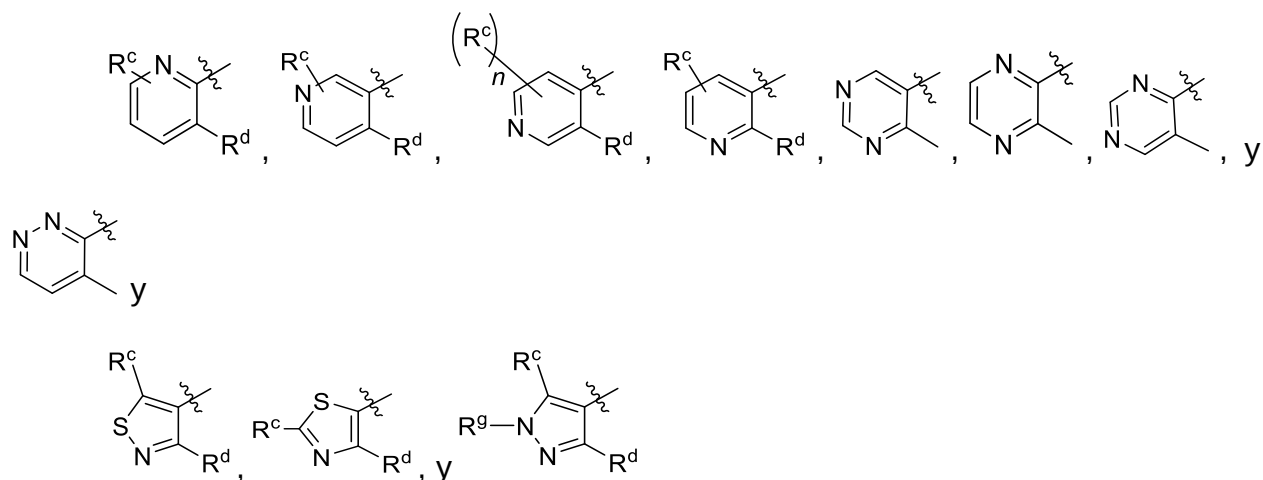
R<sup>3</sup> se selecciona del grupo que consiste en: H, halo, CH<sub>3</sub>, y OCH<sub>3</sub>;

10 R<sup>4</sup> se selecciona del grupo que consiste en:

alquilo C<sub>1-6</sub>; alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido con uno o dos OCH<sub>3</sub>; cicloalquilo C<sub>3-6</sub>;

cicloalquilo C<sub>3-6</sub> sustituido con CH<sub>3</sub> u OCH<sub>3</sub>; CH<sub>2</sub>-cicloalquilo C<sub>3-6</sub>; y ;

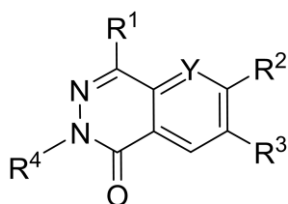




en donde

- 5 cada  $R^c$  se selecciona independientemente del grupo que consiste en: H; halo; alquilo  $C_{1-6}$ ; alquilo  $C_{1-6}$  sustituido con un miembro seleccionado del grupo que consiste en: OH,  $OCH_3$ ,  $SCH_3$ , y  $OCF_3$ ; haloalquilo  $C_{1-6}$ ; haloalquilo  $C_{1-6}$  sustituido con un miembro seleccionado del grupo que consiste en: OH, y  $OCH_3$ ;  $NO_2$ ; OH;  $O-CH_2CH_2OH$ ; y O alquilo  $C_{1-6}$ ;
- 10  $R^d$  se selecciona del grupo que consiste en: H; halo; alquilo  $C_{1-6}$ ; alquilo  $C_{1-6}$  sustituido con un miembro seleccionado del grupo que consiste en: OH,  $OCH_3$ ,  $SCH_3$ , y  $OCF_3$ ; haloalquilo  $C_{1-6}$ ; haloalquilo  $C_{1-6}$  sustituido con un miembro seleccionado del grupo que consiste en: OH, y  $OCH_3$ ; CN; y O alquilo  $C_{1-6}$ ;
- 15  $R^g$  se selecciona del grupo que consiste en: H; alquilo  $C_{1-6}$ ; alquilo  $C_{1-6}$  sustituido con un miembro seleccionado del grupo que consiste en: OH,  $OCH_3$ ,  $SCH_3$ , y  $OCF_3$ ; haloalquilo  $C_{1-6}$ ; y haloalquilo  $C_{1-6}$  sustituido con un miembro seleccionado del grupo que consiste en: OH, y  $OCH_3$ ; y
- $n$  es 1, o 2;
- o una sal, solvato, estereoisómero, variante isotópica, o N-óxido
- 20 farmacéuticamente aceptable de este.

En una modalidad de la invención, el inhibidor de DHODH es un compuesto de Fórmula (Z) que tiene la Fórmula (Zb):

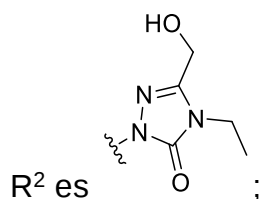


(Zb), en donde

5

Y es CH o N:

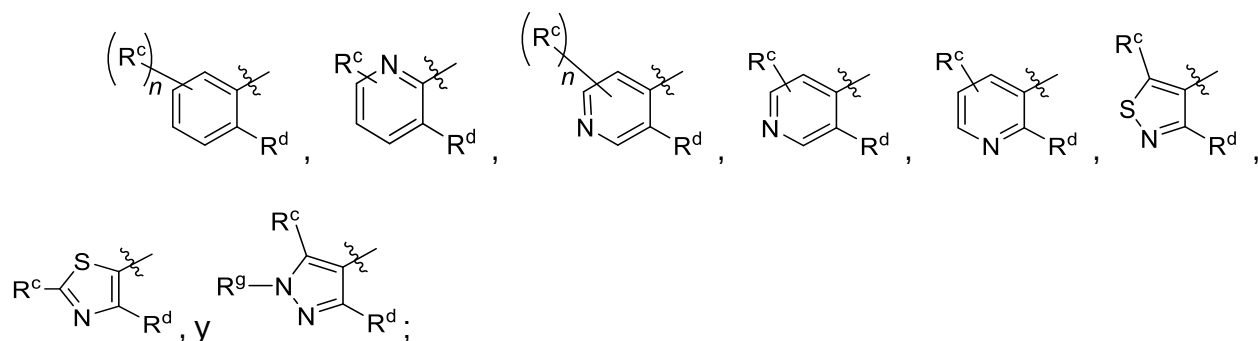
R<sup>1</sup> se selecciona del grupo que consiste en: alquilo C<sub>1-6</sub>, haloalquilo C<sub>1-6</sub> y alquenilo C<sub>2-6</sub>;



10

R<sup>3</sup> se selecciona del grupo que consiste en: H, halo y OCH<sub>3</sub>;

R<sup>4</sup> se selecciona del grupo que consiste en:



15

R<sup>c</sup> se selecciona del grupo que consiste en: H; halo; alquilo C<sub>1-6</sub>; alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido con un miembro seleccionado del grupo que consiste en: OH, OCH<sub>3</sub>, SCH<sub>3</sub>,

y  $\text{OCF}_3$ ; haloalquilo  $\text{C}_{1-6}$ ; haloalquilo  $\text{C}_{1-6}$  sustituido con un miembro seleccionado del grupo que consiste en: OH, y  $\text{OCH}_3$ ; y  $\text{NO}_2$ ;

$\text{R}^d$  se selecciona del grupo que consiste en: H; halo; alquilo  $\text{C}_{1-6}$ ; alquilo  $\text{C}_{1-6}$  sustituido con un miembro seleccionado del grupo que consiste en: OH,  $\text{OCH}_3$ ,  $\text{SCH}_3$ , y  $\text{OCF}_3$ ; haloalquilo  $\text{C}_{1-6}$ ; haloalquilo  $\text{C}_{1-6}$  sustituido con un miembro seleccionado del grupo que consiste en: OH, y  $\text{OCH}_3$ ; CN; y O alquilo  $\text{C}_{1-6}$ ;

$\text{R}^g$  se selecciona del grupo que consiste en: H; alquilo  $\text{C}_{1-6}$ ; alquilo  $\text{C}_{1-6}$  sustituido con un miembro seleccionado del grupo que consiste en: OH,  $\text{OCH}_3$ ,  $\text{SCH}_3$ , y  $\text{OCF}_3$ ; haloalquilo  $\text{C}_{1-6}$ ; y haloalquilo  $\text{C}_{1-6}$  sustituido con un miembro seleccionado del grupo que consiste en: OH, y  $\text{OCH}_3$ ; y

$n$  es 1;

o una sal, solvato, estereoisómero, variante isotópica, o N-óxido farmacéuticamente aceptable de este.

A continuación se describirán compuestos ilustrativos de Fórmula (Z) útiles en los métodos de la invención haciendo referencia a los esquemas sintéticos ilustrativos para su preparación general a continuación y a los ejemplos que siguen. Los expertos reconocerán que para obtener los diversos compuestos de la presente descripción, los materiales de partida pueden seleccionarse adecuadamente de manera que los sustituyentes que se desee usar en última instancia se transporten a través de un esquema de reacción con o sin protección de manera adecuada para obtener el producto deseado. Alternativamente, puede ser necesario o deseable usar, en lugar del último sustituyente deseado, un grupo adecuado que pueda transportarse mediante el esquema de reacción y reemplazar de manera adecuada con el sustituyente deseado. A menos que se especifique de cualquier otra manera, las variables son las definidas anteriormente, con referencia a la Fórmula (Z).

Las reacciones pueden realizarse a una temperatura entre el punto de fusión y la temperatura de reflujo del solvente y, preferentemente, entre 0 °C y la temperatura de reflujo del solvente. Las reacciones pueden calentarse usando calentamiento convencional o calentamiento con microondas. Además, las reacciones pueden llevarse a cabo en  
5 recipientes de presión sellados por encima de la temperatura normal de reflujo del solvente.

Todas las abreviaturas usadas en los esquemas generales y ejemplos para la Fórmula (Z) son como se definen en la Tabla 1A. Las variables son como se definen en el alcance o como se definen específicamente en los esquemas generales.

10 **Tabla 1A - Abreviaturas**

| Abreviatura          | Nombre                                                                |
|----------------------|-----------------------------------------------------------------------|
| Å                    | angstrom                                                              |
| ACN o MeCN           | acetonitrilo                                                          |
| AcOH                 | ácido acético glacial                                                 |
| AcOK                 | Acetato de potasio                                                    |
| AgBF <sub>4</sub>    | tetrafluoroborato de plata                                            |
| AlMe <sub>3</sub>    | Trimetilaluminio                                                      |
| Ar                   | Argón                                                                 |
| ac.                  | acuoso                                                                |
| AuCl <sub>3</sub>    | Cloruro de oro(III)                                                   |
| BCl <sub>3</sub>     | tricloruro de boro                                                    |
| Bn o Bzl             | bencilo                                                               |
| Boc                  | terc-butoxicarbonilo                                                  |
| (Boc) <sub>2</sub> O | Dicarbonato de di-terc-butilo                                         |
| catacxiu A Pd G2     | cloro[(di(1-adamantil)-N-butilfosfina)-2-(2-aminobifenil)]paladio(II) |
| CdCl <sub>2</sub>    | cloruro de cadmio                                                     |
| Celite®              | tierra de diatomeas                                                   |
| conc.                | concentrado                                                           |
| CO <sub>2</sub>      | dióxido de carbono                                                    |
| (COCl) <sub>2</sub>  | cloruro de oxalilo                                                    |
| CuI                  | yoduro de cobre(I)                                                    |
| Cu(OAc) <sub>2</sub> | acetato de cobre(II)                                                  |

| Abreviatura                                        | Nombre                                                                                              |
|----------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Cy <sub>2</sub> NMe                                | <i>N,N</i> -d ciclohexilmetilamina                                                                  |
| CS <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>                    | Carbonato de cesio                                                                                  |
| DCC                                                | <i>N,N'</i> -d ciclohexil-carbodiimida                                                              |
| DCE                                                | dicloroetano                                                                                        |
| DCM                                                | diclorometano                                                                                       |
| DIPEA o DIEA                                       | diisopropil-etil amina                                                                              |
| DEAD                                               | Azodicarboxilato de dietilo                                                                         |
| DEA                                                | dietanolamina                                                                                       |
| DHP                                                | 3,4-dihidropirano                                                                                   |
| DMA                                                | dimetilnilina                                                                                       |
| DMAP                                               | 4-dimetilaminopiridina                                                                              |
| DME                                                | dimetoxietano                                                                                       |
| DMF                                                | <i>N,N</i> -dimetilformamida                                                                        |
| DMP                                                | periyodinano de Dess-Martin o 1,1,1-tris(acetiloxi)-1,1-dihidro-1,2-benziodoxol-3-(1 <i>H</i> )-ona |
| DMSO                                               | dimetilsulfóxido                                                                                    |
| Dppf o DPPF                                        | 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno                                                                   |
| EDCI                                               | 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida                                                        |
| ES-API                                             | ionización por electrorrociado a presión atmosférica                                                |
| ESI                                                | ionización por electrorrociado                                                                      |
| Et <sub>3</sub> N.3HF                              | trihidrofluoruro de trietilamina                                                                    |
| EtOAc o EA                                         | Acetato de etilo                                                                                    |
| EtOH                                               | Etanol                                                                                              |
| EtONa                                              | etóxido de sodio                                                                                    |
| EtMgBr                                             | bromuro de etilmagnesio                                                                             |
| GCMS                                               | cromatografía de gases-espectrometría de masa                                                       |
| h o hr(s)                                          | hora u horas                                                                                        |
| H <sub>2</sub>                                     | gas hidrógeno                                                                                       |
| HCl                                                | cloruro de hidrógeno                                                                                |
| HPLC                                               | cromatografía en líquido de alto rendimiento                                                        |
| HPA                                                | ácido hipofosforoso                                                                                 |
| H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>                     | Ácido sulfúrico                                                                                     |
| i-PrMgCl                                           | cloruro de isopropilmagnesio                                                                        |
| IPA                                                | isopropilamina                                                                                      |
| iPrOH                                              | alcohol isopropílico o 2-propanol                                                                   |
| aldehído isovalérico                               | 3-metilbutanal                                                                                      |
| KHMDS                                              | Bis(trimetilsilil)amida de potasio                                                                  |
| KI                                                 | Yoduro de potasio                                                                                   |
| K <sub>2</sub> OsO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O | osmiato de potasio (VI) dihidratado                                                                 |
| K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>                     | Carbonato de potasio                                                                                |

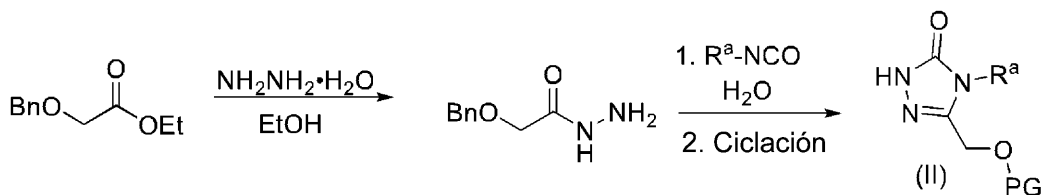
| Abreviatura                                              | Nombre                                                                                                                                                      |
|----------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| $K_3PO_4$                                                | fosfato de potasio                                                                                                                                          |
| LCMS o LC/MS                                             | cromatografía líquida-espectrometría de masa                                                                                                                |
| LiHMDS                                                   | Litio bis(trimetilsilil)amida                                                                                                                               |
| MeOH                                                     | Metanol                                                                                                                                                     |
| MeMgBr                                                   | bromuro de metilmagnesio                                                                                                                                    |
| $Mg(ClO_4)_2$                                            | perclorato de magnesio                                                                                                                                      |
| $MgSO_4$                                                 | sulfato de magnesio                                                                                                                                         |
| MHz                                                      | megahertz                                                                                                                                                   |
| min.                                                     | minuto o minutos                                                                                                                                            |
| Ms                                                       | espectrometría de masa                                                                                                                                      |
| $NaBH_4$                                                 | Borohidruro de sodio                                                                                                                                        |
| NaHMDS                                                   | Sodio bis(trimetilsilil)amida                                                                                                                               |
| NaOH                                                     | Hidróxido de sodio                                                                                                                                          |
| NaOEt                                                    | etóxido de sodio                                                                                                                                            |
| $NaHCO_3$                                                | Bicarbonato de sodio                                                                                                                                        |
| $Na_2CO_3$                                               | Carbonato de sodio                                                                                                                                          |
| $NaIO_4$                                                 | peryodato de sodio                                                                                                                                          |
| $NaNO_2$                                                 | nitrito de sodio                                                                                                                                            |
| $Na_2SO_4$                                               | Sulfato de sodio                                                                                                                                            |
| $N_2$                                                    | gas nitrógeno                                                                                                                                               |
| NBS                                                      | N-bromosuccinimida                                                                                                                                          |
| NCS                                                      | N-clorosuccinimida                                                                                                                                          |
| $NH_2NH_2 \cdot H_2O$                                    | monohidrato de hidrazina                                                                                                                                    |
| NIS                                                      | N-yodosuccinimida                                                                                                                                           |
| $NH_4Cl$                                                 | cloruro de amonio                                                                                                                                           |
| $NH_4HCO_3$                                              | bicarbonato amónico                                                                                                                                         |
| $NH_3 \cdot H_2O$ o $NH_4OH$                             | hidróxido de amonio                                                                                                                                         |
| NMR                                                      | resonancia magnética nuclear                                                                                                                                |
| $[Pd(alil)Cl]_2$                                         | dímero de alilcloropaladio o bis(alil)diclorodipaladio o bis(alil)dicloropaladio o bis(alil)dicloropaladio o bis(alilcloropaladio) o dialildiclorodipaladio |
| $PdCl_2(PPh_3)_2$ o $Pd(PPh_3)_2Cl_2$                    | dicloruro de bis(trifenilfosfina)paladio(II)                                                                                                                |
| $Pd(PPh_3)_4$                                            | tetrakis(trifenilfosfina)paladio                                                                                                                            |
| $Pd(OAc)_2$                                              | acetato de paladio (II)                                                                                                                                     |
| $P(tBu_3)PdG_2$ o $tBu_3PPdG_2$                          | cloro[(tri- <i>tert</i> -butilfosfina)-2-(2-aminobifenil)]paladio(II)                                                                                       |
| PE                                                       | éter de petróleo                                                                                                                                            |
| $PPh_3$                                                  | trifenilfosfina                                                                                                                                             |
| ppm                                                      | partes por millón                                                                                                                                           |
| $Pd(dppf)Cl_2 \cdot CH_2Cl_2$ o $Pd(dppf)Cl_2 \cdot DCM$ | complejo 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno-paladio(II)dicloruro diclorometano                                                                               |
| Pd/C                                                     | Paladio en carbono                                                                                                                                          |
| PG                                                       | grupo protector                                                                                                                                             |

| Abreviatura                                                                  | Nombre                                                            |
|------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|
| RP                                                                           | fase inversa                                                      |
| Ta o TA                                                                      | temperatura ambiente                                              |
| R <sub>t</sub>                                                               | tiempo de retención                                               |
| RhCl(PPh <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> o Rh(PPh <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> Cl | catalizador de Wilkinson o clorotris(trifenilfosfina)rodio(I)     |
| S                                                                            | segundo o segundos                                                |
| SFC                                                                          | Cromatografía de fluido supercrítico                              |
| SiO <sub>2</sub>                                                             | gel de sílice                                                     |
| SOCl <sub>2</sub>                                                            | Cloruro de tionilo                                                |
| O <sub>2</sub>                                                               | gas oxígeno                                                       |
| TBAB                                                                         | bromuro de tetrabutilamonio o bromuro <i>tetra</i> -n-butilamonio |
| TBDPS                                                                        | <i>terc</i> -butildifenfenilclorosilano                           |
| TBAF                                                                         | fluoruro de tetrabutilamonio                                      |
| TBHP                                                                         | hidroperóxido de <i>terc</i> -butilo                              |
| TBS                                                                          | <i>terc</i> -butildimetilsililo                                   |
| TES                                                                          | triethylsilano                                                    |
| TIPS                                                                         | triisopropilsilano                                                |
| TEA o Et <sub>3</sub> N                                                      | triethylamina                                                     |
| TFA                                                                          | ácido trifluoroacético                                            |
| THF                                                                          | tetrahidrofurano                                                  |
| TiCl <sub>4</sub>                                                            | tetracloruro de titanio                                           |
| TLC                                                                          | cromatografía de capa fina                                        |
| TF <sub>2</sub> NPh                                                          | N-fenilbis(trifluorometanosulfonimida)                            |
| triflato                                                                     | trifluorometanosulfonilo                                          |
| Tf <sub>2</sub> O                                                            | anhídrido triflico o anhídrido trifluorometanosulfónico           |
| TMSOiPr                                                                      | isopropoxitrimetilsilano                                          |
| (PTSA o pTsOH) o ácido tosílico                                              | Ácido p-toluenosulfónico                                          |

## EJEMPLOS PREPARATIVOS

Los compuestos ilustrativos de Fórmula (Z) útiles en los métodos de la invención se describirán ahora con referencia a los esquemas sintéticos ilustrativos para su preparación general y a los ejemplos específicos que siguen.

## ESQUEMA 1



De acuerdo con el Esquema 1, un compuesto 1,2,4-triazol-5-(4H)-ona de la F3rmula

5 (II), en donde PG es Bn, se prepara a partir de acetato de etilo 2-(benciloxi) en tres etapas. En una primera etapa, se prepara acetohidrazida de 2-(benciloxi) mediante la reacci3n de acetato de etilo 2-(benciloxi) con hidrato de hidrazina, en un solvente adecuado tal como EtOH, y lo similar; a temperaturas que varían de 70-85 °C. Reacci3n del hidrazida con un isocianato de la F3rmula  $\text{R}^a\text{-NCO}$ , donde  $\text{R}^a$  es alquilo  $\text{C}_{1-6}$ , en un solvente adecuado tal

10 como agua, y lo similar; proporciona la semicarbazida correspondiente. La ciclaci3n subsiguiente de la semicarbazida con una base adecuada tal como NaOH, en un solvente adecuado tal como agua, proporciona un compuesto de la F3rmula (II), donde PG es Bn.

Un compuesto de la F3rmula (II), donde  $\text{R}^a$  es haloalquilo  $\text{C}_{1-6}$  o cicloalquilo  $\text{C}_{3-6}$ ; puede prepararse como se describi3 anteriormente usando un compuesto adecuadamente

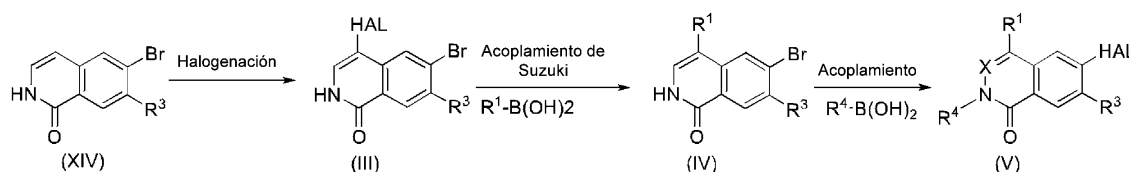
15 sustituido de la F3rmula  $\text{R}^a\text{-NCO}$ , donde  $\text{R}^a$  es haloalquilo  $\text{C}_{1-6}$  o cicloalquilo  $\text{C}_{3-6}$ .

El intercambio de grupo protector de un compuesto de la F3rmula (II), donde PG es Bn a un compuesto de la F3rmula (II) donde PG es TBDPS, se logra en dos etapas usando metodologías establecidas, como las que se describen en T. W. Greene y P. G. M. Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", 3rd ed., John Wiley & Sons, 1999. En una

20 primera etapa, la desprotecci3n del grupo bencilo se logra en condiciones hidrogenolíticas conocidas por un experto en la t3cnica proporciona el alcohol. Por ejemplo, la desprotecci3n

se logra usando un catalizador de paladio tal como Pd/C, y lo similar; en H<sub>2</sub>; en un solvente adecuado, tal como EtOH, MeOH, EtOAc, o una mezcla de estos, preferentemente EtOH; con o sin la presencia de HCl; durante un período de 4 a 72 horas. En una segunda etapa, la protección del alcohol correspondiente, como el éter de sililo, se logra con cloruro de *tert*-butildifenilsililo, una base adecuada tal como imidazol, dimetilaminopiridina, piridina, y lo similar; en un solvente tal como DMF, DCM y lo similar; a temperaturas que varían de 0 °C a temperatura ambiente; proporciona un compuesto de la Fórmula (II) donde PG es TBDPS.

## ESQUEMA 2

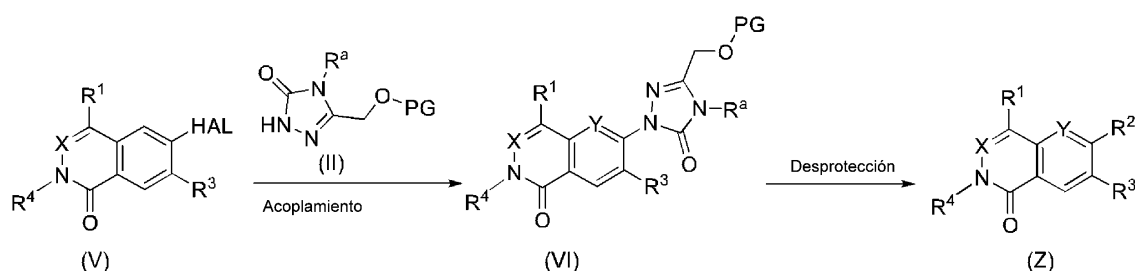


De acuerdo con el ESQUEMA 2, un compuesto de la Fórmula (XIV), donde R<sup>3</sup> es H se trata con un reactivo halogenante, tal como N-yodosuccinimida (NIS), y lo similar; en un solvente aprótico tal como acetonitrilo, y lo similar; en condiciones de calentamiento; para proporcionar el compuesto halogenado de la Fórmula (III), en donde HAL es yoduro. Un compuesto de la Fórmula R<sup>1</sup>-B(OH)<sub>2</sub>; se hace reaccionar bajo condiciones de acoplamiento de Suzuki conocidas por un experto en la técnica con un compuesto de la Fórmula (III), para proporcionar un compuesto de la Fórmula (IV). Por ejemplo, un compuesto de la Fórmula (III), donde HAL es yoduro, se hace reaccionar a un ácido borónico (o éster borónico) comercialmente disponible o sintéticamente accesible como R<sup>1</sup>-B(OH)<sub>2</sub>, donde R<sup>1</sup> es un alquenilo o arilo C<sub>2-6</sub> sustituido opcionalmente como se define en la presente descripción con referencia a la Fórmula

(Z); un catalizador de paladio tal como dicloruro de bis(trifenilfosfina) paladio (II), tetrakis (trifenilfosfina)-paladio, y lo similar; una base adecuada tal como fosfato de potasio,  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$ , y lo similar; en un solvente adecuado tal como dioxano, agua, etanol, o una mezcla de estos; para proporcionar un compuesto de la Fórmula (IV). Un compuesto de la Fórmula (IV), donde  $\text{R}^3$  es H, se hace reaccionar con un compuesto de la Fórmula  $\text{R}^4\text{-B(OH)}_2$ ; bajo condiciones de acoplamiento de Chan-Lam mediada por cobre (II) conocidas por un experto en la técnica, para proporcionar un compuesto de la Fórmula (V), donde HAL es bromuro, X es CH y  $\text{R}^3$  es H. Por ejemplo, un compuesto de la Fórmula (IV) se hace reaccionar con un compuesto de la Fórmula  $\text{R}^4\text{-B(OH)}_2$ , donde  $\text{R}^4$  es como se define en la presente descripción con referencia a la Fórmula (Z); un catalizador tal como acetato de cobre (II), y lo similar; una base tal como piridina,  $\text{NEt}_3$ , y lo similar; en un solvente adecuado tal como DCM, ACN, dioxano, THF, y lo similar. para producir un compuesto de la Fórmula (V).

15

## ESQUEMA 3



De acuerdo con el ESQUEMA 3, la reacción de aminación aromática de tipo Ullmann de un compuesto de la Fórmula (V), donde  $\text{R}^1$  se sustituye opcionalmente con alqueno  $\text{C}_{2-6}$ ,  $\text{R}^3$  es H,  $\text{R}^4$  es fenilo sustituido adecuadamente como se describe en la

20

presente descripción con referencia a la Fórmula (Z) y HAL es Br; con un compuesto nucleofílico disponible comercialmente o accesible sintéticamente de la Fórmula (II), en donde  $R^a$  es alquilo  $C_{1-6}$ ; tales como triazolonas protegidas adecuadamente, donde PG se selecciona de: bencilo, 4-metoxi bencilo, o un alquil o aril silano, tal como TBDPS, TBS, TES o TIPS; en presencia del catalizador CuI y una diamina tal como trans-1,2-diaminociclohexano, y una base tal como  $K_3PO_4$ ,  $K_2CO_3$ ,  $CS_2CO_3$ ,  $NaHCO_3$ , trietilamina, y lo similar; en un solvente adecuado, tal como 1,4-dioxano, DMSO, DMF, THF, ACN, y lo similar; proporciona un compuesto de la Fórmula (VI), donde X es CH e Y es CH.

Un compuesto de la Fórmula (VI), donde PG es Bn y  $R^1$  es alqueno  $C_{2-6}$ , se hace reaccionar bajo las condiciones de reacción de ciclopropanación de Simmons-Smith conocidas para un experto en la técnica para proporcionar un compuesto de la Fórmula (VI) donde  $R^1$  es cicloalquilo  $C_{3-6}$  sustituido con alquilo  $C_{1-6}$ . Por ejemplo, un compuesto

de la Fórmula (VI), donde  $R^1$  es , se hace reaccionar con diyodometano; dietilzinc; en un solvente adecuado tal como tolueno y lo similar; a temperaturas que varían de 0 °C a temperatura ambiente; durante un período de 3 a 26 h; para proporcionar un compuesto de la Fórmula (VI), donde  $R^1$  es ciclopropilo sustituido con  $CH_3$ .

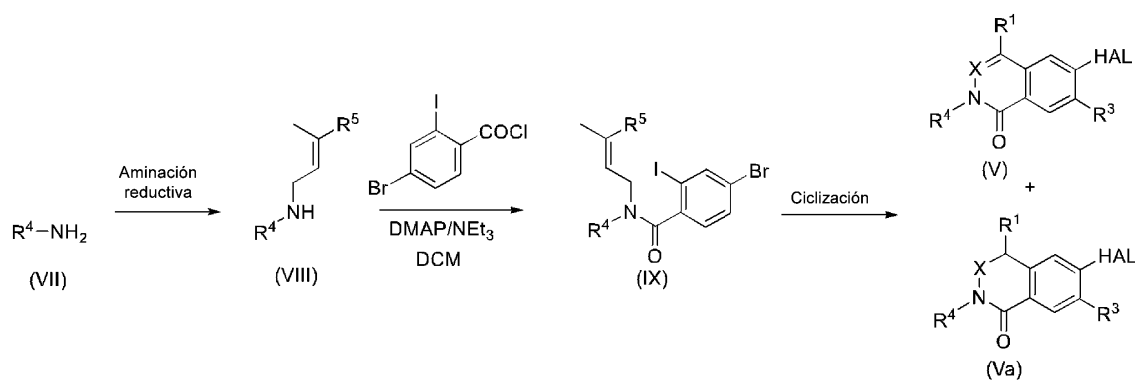
La desprotección posterior que usa las metodologías establecidas, tales como las que se describen en T. W. Greene y P. G. M. Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", 3.º ed., John Wiley & Sons, 1999), proporciona un compuesto de Fórmula (Z), donde X e Y son CH. Por ejemplo, el compuesto de la Fórmula (VI), donde  $R^3$  es H, y PG es TBDPS, se desprotege usando condiciones conocidas por un experto en la técnica, preferentemente con TBAF en un solvente adecuado tal como THF, y lo similar. En un método preferido, el PG es

TBDPS, y  $R^a$  es alquilo  $C_{1-6}$ . Alternativamente, la remoción de un grupo protector TBDPS se logra usando fluoruro de trihidrógeno de trietilamina ( $Et_3N \cdot 3HF$ ).

La eliminación del grupo protector de Bn se logra en presencia del gas de hidrógeno, en presencia de un catalizador tal como paladio sobre carbono (Pd/C). La eliminación del grupo protector de Bn también se logra usando TFA, a una temperatura de aproximadamente 80 °C.

Un compuesto de Fórmula (Z), donde X es CH; Y es CH;  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$  se define cada uno como se describe en la presente descripción con referencia a la Fórmula (Z); y  $R^1$  es alqueno  $C_{2-6}$ , se reduce usando condiciones de hidrogenación conocidas para un experto en la técnica, por ejemplo, reacción con Pd/C o catalizador de Wilkinson  $[RhCl(PPh_3)_3]$  bajo  $H_2$ ; en un solvente adecuado, tal como MeOH, THF, EtOAc, y lo similar; proporciona un compuesto de Fórmula (Z), donde  $R^1$  es alquilo  $C_{2-6}$ .

#### ESQUEMA 4



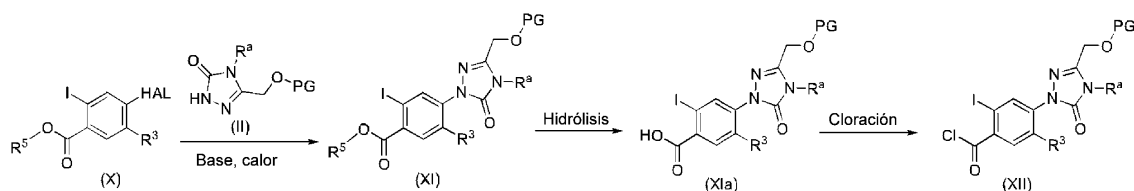
De acuerdo con el ESQUEMA 4, la aminación reductiva de un compuesto de la Fórmula (VII), con  $\alpha$ ,  $\beta$ -aldehído insaturado tal como 3-metil-2-butenal, 3-metilpent-2-enal, y lo similar; usando  $TiCl_4$ ; y una base tal como trietilamina; en un solvente aprótico tal como

diclorometano (DCM), y lo similar; proporciona un intermedio de enamina que posteriormente se reduce usando un agente reductor tal como  $\text{NaBH}_4$ , y lo similar; para proporcionar un compuesto de la Fórmula (VIII), donde  $\text{R}^5$  es alquilo  $\text{C}_{1-4}$ ,  $\text{R}^4$  es como se define en la presente descripción con referencia a la Fórmula (Z); Un compuesto de la Fórmula (VIII) se acopla con

5 cloruro de 4-bromo-2-yodobenzoil comercialmente disponible o sintéticamente asequible usando una base tal como trietilamina y 4-dimetilaminopiridina (DMAP); en un solvente aprótico anhidro tal como diclorometano (DCM), y lo similar; para proporcionar un compuesto de la Fórmula (IX). El tratamiento de un compuesto de la Fórmula (IX), con acetato de paladio (II), bromuro de tetrabutilamonio, y acetato de potasio bajo condiciones de reacción de Heck

10 al calor, proporciona los compuestos ciclizados intramoleculares de la Fórmula (V), en donde  $\text{R}^1$  se sustituye opcionalmente con alquilo  $\text{C}_{2-6}$ ,  $\text{R}^3$  es H, X es CH, y HAL es Br; y (Va) en donde  $\text{R}^1$  se sustituye opcionalmente con alqueno  $\text{C}_{2-6}$ ,  $\text{R}^3$  es H, X es  $\text{CH}_2$ , y HAL es Br.

### ESQUEMA 5

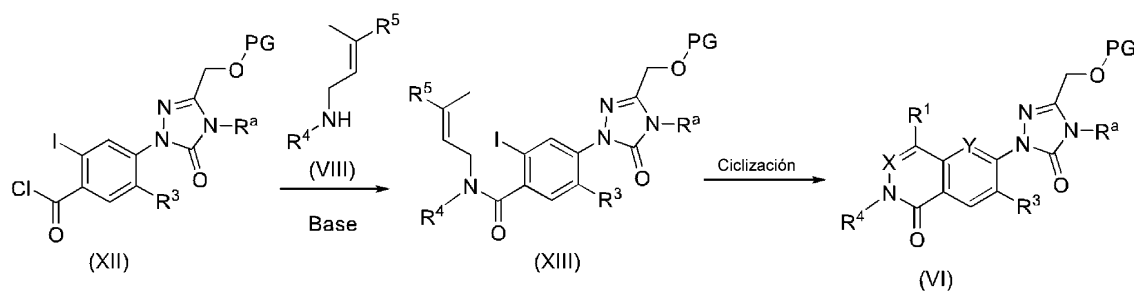


De acuerdo con el Esquema 5, la reacción de un compuesto comercialmente disponible o sintéticamente accesible de la Fórmula (X), donde HAL es F,  $\text{R}^3$  es F, y  $\text{R}^5$  es H o alquilo  $\text{C}_{1-4}$ ; con un compuesto nucleofílico comercialmente disponible o sintéticamente

20 accesible de la Fórmula (II), en donde  $\text{R}^a$  es alquilo  $\text{C}_{1-6}$ , tales como triazolonas adecuadamente protegidas, donde PG se selecciona de: bencilo, bencilo 4-metoxi, o un

silano de arilo o alquilo tales como TBDPS, TBS, TES, o TIPS; en presencia de una base adecuada tal como  $K_3PO_4$ ,  $K_2CO_3$ ,  $CS_2CO_3$ ,  $NaHCO_3$ , trietilamina, y lo similar; en un solvente adecuado, tal como DMSO, DMF, THF, ACN, y lo similar; proporciona un compuesto de la Fórmula (XI). En un método preferido, el PG es Bn, y  $R^a$  es alquilo  $C_{1-6}$ . El éster de la Fórmula (XI), cuando  $R^5$  es alquilo  $C_{1-4}$ , se hidroliza a su ácido correspondiente, bajo condiciones acídicas o básicas. Por ejemplo, el tratamiento del éster ter-butil ( $R^5$  es *terc*-Bu) con TFA; o alternativamente, hidrólisis con una base como de NaOH, en un solvente acuoso, proporciona un compuesto de la Fórmula (Xia), donde  $R^5$  es H. Un compuesto de la Fórmula (Xia) es clorado, usando las condiciones conocidas por un experto en la técnica, para proporcionar el cloruro de acilo de la Fórmula (XII). Por ejemplo, un compuesto de la Fórmula (Xia) se calienta en  $SOCl_2$ ; o se trata con cloruro de oxalilo en DCM.

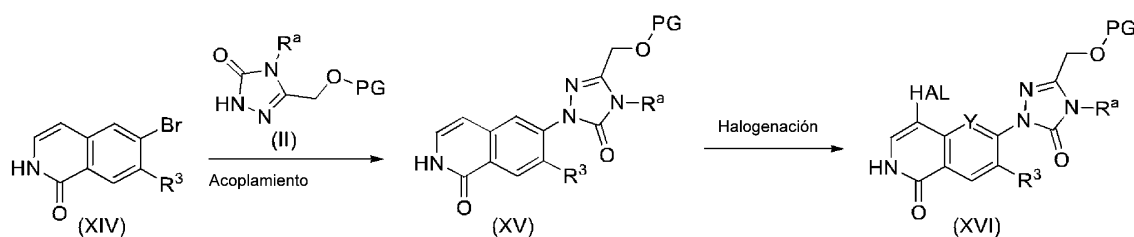
## ESQUEMA 6



De acuerdo con el Esquema 6, un compuesto de la Fórmula (XII), donde  $R^3$  es H o F, PG es Bn, y  $R^a$  es alquilo  $C_{1-6}$ ; se hace reaccionar con un compuesto de la Fórmula (VIII), donde  $R^5$  es alquilo de  $C_{1-4}$  usando una base tal como una mezcla de trietilamina (TEA) y 4-dimetilaminopiridina (DMAP); en un solvente aprótico anhidro tal como diclorometano (DCM), y lo similar; para proporcionar un compuesto de la Fórmula (XIII).

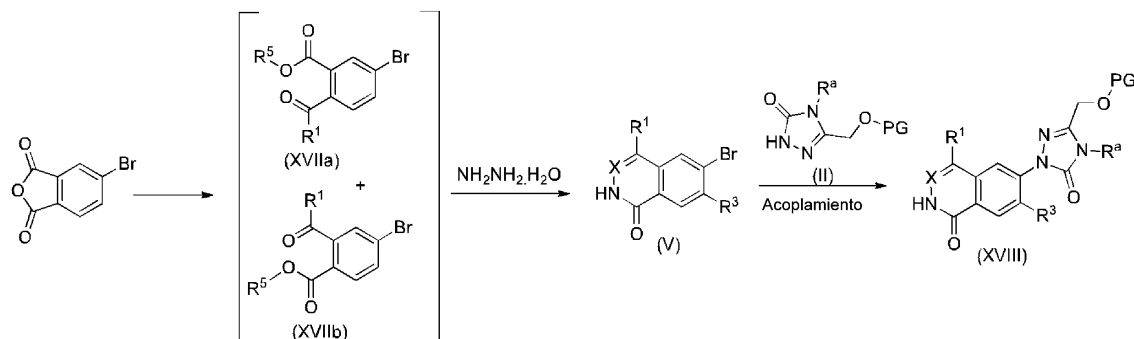
Un compuesto de la Fórmula (VI), donde X es CH e Y es CH, se obtiene mediante tratamiento de un compuesto de la Fórmula (XIII), donde R<sup>1</sup> se sustituye opcionalmente con alquilo C<sub>1-6</sub> como se describe en la presente descripción con referencia a la Fórmula (Z); con acetato de paladio (II), bromuro de tetrabutilamonio, y acetato de potasio bajo condiciones de reacción de Heck de calentamiento, que proporciona una mezcla de compuestos ciclizados intramoleculares, que después se separan para aislar un compuesto intermedio en donde R<sup>1</sup> es alquilo C<sub>2-6</sub>, y R<sup>3</sup> es H o F.

## ESQUEMA 7



De acuerdo con el Esquema 7, la reacción de aminación aromática tipo Ullmann de un compuesto de la Fórmula (XIV), donde R<sup>3</sup> es H o F, con un compuesto de la Fórmula (II); tales como triazolonas protegidas adecuadamente, donde PG se selecciona de: bencilo, 4-metoxi bencilo, o un alquil o aril silano, tal como TBDPS, TBS, TES o TIPS; de acuerdo con los métodos descritos anteriormente; proporciona un compuesto de la Fórmula (XV). En un método preferido, el PG es Bn, y R<sup>a</sup> es alquilo C<sub>1-6</sub>. Un compuesto de la Fórmula (XV) se trata con un reactivo halogenante tal como N-yodosuccinimida (NIS), y lo similar; en un solvente aprótico tal como acetonitrilo, y lo similar; en condiciones de calentamiento; proporciona un compuesto halogenado de la Fórmula (XVI), donde Y es CH y HAL es yoduro.

## ESQUEMA 8



De acuerdo con el Esquema 8, los compuestos de la Fórmula (XVIIa) y (XVIIb)

5 se preparan a partir de 5-bromoisobenzofurano-1,3-diona en dos etapas. 5-bromoisobenzofurano-1,3-diona se hace reaccionar con un reactivo de alquilo Grignard sustituido comercialmente disponible o sintéticamente accesible, tal como *i*-PrMgCl, EtMgBr, y lo similar; en la presencia de CdCl<sub>2</sub>; en solvente aprótico como THF, y lo similar; seguido de un tratamiento posterior con un agente alquilante de la Fórmula R<sup>5</sup>-

10 I, donde R<sup>5</sup> es alquilo C<sub>1-4</sub> (tales como yodometano o yodoetano); en la presencia de una base como K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, CS<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, y lo similar; en un solvente aprótico, tal como DMF, DMSO, y lo similar; ofrece una mezcla de ésteres regio-isoméricos de la Fórmula (XVIIa) y (XVIIb), donde R<sup>1</sup> es un alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido opcionalmente. De manera similar, los reactivos de arilo Grignard pueden usarse para proporcionar compuestos de la Fórmula

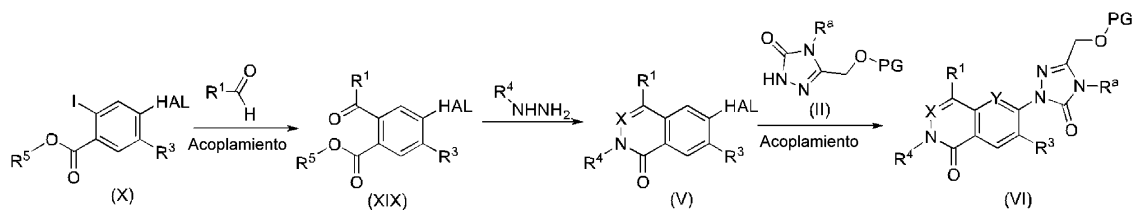
15 (XVIIa) y (XVIIb), donde R<sup>1</sup> es un fenilo sustituido adecuadamente. Los regioisómeros de la Fórmula (XVIIa) y (XVIIb) no están separados, pero se usan directamente y se convierten en la (mezcla) ftalazinona correspondiente. Por ejemplo, una mezcla de la Fórmula (XVIIa) y la Fórmula (XVIIb) se tratan con exceso de hidrazina; en un solvente adecuado tal como etanol o metanol; a temperaturas que varían desde la temperatura

ambiente a 90 °C; durante un período de 6 a 20 horas. El compuesto de ftalazinona deseado de la Fórmula (V) puede separarse fácilmente del otro regioisómero por precipitación, cristalización, o purificarse por cromatografía ultrarrápida. Reacción de aminación aromática de tipo Ullmann de un compuesto de la Fórmula (V), con triazolona con protección adecuada de la Fórmula (II), donde R<sup>a</sup> es alquilo C<sub>1-6</sub>, y PG se selecciona de: bencilo, 4-metoxi bencilo, o un silano de arilo o alquilo tal como TBDPS, TBS, TES, o TIPS; en presencia del catalizador CuI y una diamina tal como trans-1,2-diaminociclohexano, y una base tal como K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, NaHCO<sub>3</sub>, trietilamina, y lo similar; en un solvente adecuado, tal como 1,4-dioxano, DMSO, DMF, THF, ACN, y lo similar; proporciona un compuesto de la Fórmula (XVIII), donde X es N.

Un compuesto de la Fórmula (XVIII), en donde R<sup>1</sup> es alqueno C<sub>2-6</sub>, se hace reaccionar bajo las condiciones de ciclopropanación como la reacción de Simmons-Smith conocidas por el experto en la técnica, para proporcionar un compuesto de la Fórmula (XVIII) donde R<sup>1</sup> es cicloalquilo C<sub>3-6</sub> sustituido con alquilo C<sub>1-6</sub>. Por ejemplo, un compuesto de la Fórmula (XVIII), donde R<sup>1</sup> es alqueno C<sub>2-6</sub>, se hace reaccionar con diyodometano; dietilzinc; en un solvente adecuado tal como tolueno y lo similar; a temperaturas que varían de 0 °C a temperatura ambiente; durante un período de 24 a 26 h; para proporcionar un compuesto de la Fórmula (XVIII), donde R<sup>1</sup> es ciclopropilo sustituido con CH<sub>3</sub>.

20

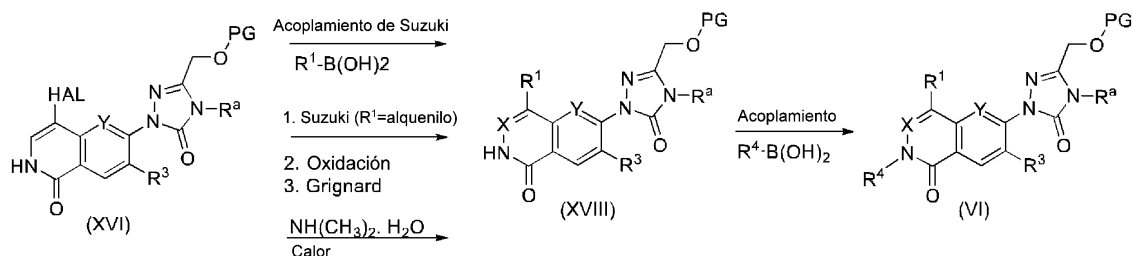
## ESQUEMA 9



De acuerdo con el Esquema 9, un compuesto de la Fórmula (X), donde HAL es Br,  $R^3$  es H, y  $R^5$  es  $CH_3$ , se acopla en una reacción de carbonilación catalizada por paladio con un aldehído comercialmente disponible o sintéticamente accesible de la Fórmula  $R^1-CHO$ , donde  $R^1$  es alquilo  $C_{1-6}$ ; para proporcionar el compuesto de cetona correspondiente de la Fórmula (XIX) (una transformación similar ha sido reportada por Suchand et al en *J. Org. Chem.* 2016, 81, 6409–6423). Por ejemplo, la reacción de metil-4-bromo-2-yodobenzoato con isobutilaldehído; en la presencia de un catalizador de paladio tal como  $Pd(OAc)_2$ ;  $Ag_2O$ ; y un agente oxidante tal como solución acuosa de terc-butil hidroperóxido (TBHP); a una temperatura de aproximadamente 120 °C; durante un período de 10-14 h; se proporcionó metil-4-bromo-2-isobutirilbenzoato. Un compuesto de cetona de la Fórmula (XIX) se hace reaccionar con hidracina  $R^4-NHNH_2$ , donde  $R^4$  es arilo sustituido adecuadamente tal como 2-cloro-6-fluorofenilhidracina; para proporcionar un compuesto de la Fórmula (V), donde X es N. La reacción de aminación aromática de tipo Ullman de un compuesto de la Fórmula (V) con una triazolona (II) adecuadamente protegida, como se describió anteriormente, proporciona un compuesto de la Fórmula (VI), donde Y es CH y  $R^1$  se selecciona de alquilo  $C_{1-6}$ .

Un compuesto de la Fórmula (VI), donde Y es CH y  $R^1$  es fenilo y X es N, puede prepararse de una manera similar, usando métodos previamente descritos por acoplamiento de metil-4-bromo-2-yodobenzoato con un aldehído comercialmente disponible o sintéticamente accesible de la Fórmula  $R^1-CHO$ , donde  $R^1$  es fenilo.

## ESQUEMA 10



De acuerdo con el Esquema 10, un compuesto de la Fórmula  $R^1-B(OH)_2$ ; se hace

5 reaccionar bajo condiciones de acoplamiento de Suzuki conocidas por el experto en la técnica, con un compuesto de la Fórmula (XVI), para proporcionar un compuesto de la Fórmula (XVIII), donde X es CH. Por ejemplo, un compuesto de la Fórmula (XVI), donde Y es CH y HAL es yoduro, se hace reaccionar con un ácido borónico (o éster borónico) comercialmente disponible o sintéticamente accesible tal como  $R^1-B(OH)_2$ , donde  $R^1$  es un

10 alqueno  $C_{2-6}$ , cicloalquilo o arilo  $C_{3-6}$  sustituido opcionalmente, como se define en la presente descripción con referencia a la Fórmula (Z); un catalizador de paladio tal como dicloruro de bis(trifenilfosfina)paladio(II), y lo similar; una base adecuada tal como fosfato de potasio,  $Cs_2CO_3$ , y lo similar; en un solvente adecuado tal como dioxano, agua, etanol, o una mezcla de estos; para proporcionar un compuesto del compuesto de la Fórmula (XVIII), donde X es

15 CH. Se ha observado que durante la reacción de acoplamiento, como se describió anteriormente, la pérdida de yoduro durante las condiciones de reacción proporcionaron un compuesto de la Fórmula (XVIII), donde X es CH, y  $R^1$  es H. Un compuesto de la Fórmula (XVIII), donde X es CH o N, se hace reaccionar con un compuesto de la Fórmula  $R^4-B(OH)_2$ ; bajo condiciones de acoplamiento de Chan-Lam mediada por cobre (II) conocidas por un

20 experto en la técnica, o como se describió anteriormente, para proporcionar un compuesto de la Fórmula (VI), donde X es CH o N,  $R^1$  es alqueno  $C_{2-6}$  sustituido opcionalmente,  $R^3$  es

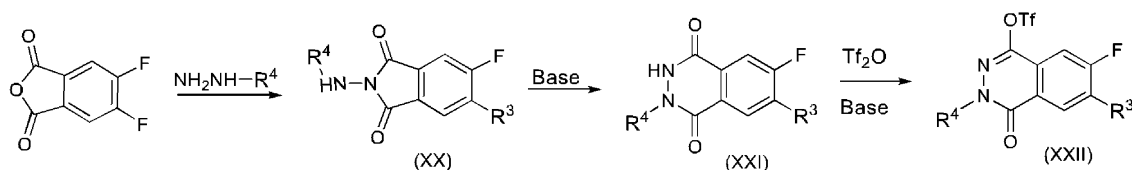
H o F, y  $R^4$  es un fenilo sustituido adecuadamente como se describió en la presente descripción con referencia a la Fórmula (Z);.

Un compuesto de la Fórmula (XVIII), donde  $R^1$  es  $N(CH_3)_2$  se prepara a partir de un compuesto de la Fórmula (XVI), donde HAL es Br y PG es Bn. Reacción de un compuesto de la Fórmula (XVI) con una amina bs tal como  $NH(CH_3)_2$  en agua; a una temperatura de aproximadamente 110 °C; durante un período de 96 horas; proporciona un compuesto de la Fórmula (XVIII) donde  $R^1$  es  $N(CH_3)_2$ , y  $R^a$  es alquilo  $C_{1-6}$ . Un compuesto de Fórmula (Z), donde  $R^1$  es  $N(CH_3)_2$  se prepara de acuerdo con los métodos descritos anteriormente.

Un compuesto de la Fórmula (XVIII), donde  $R^1$  es alquilo  $C_{1-6}$  sustituido con OH, se prepara a partir de un compuesto de la Fórmula (XVIII), donde  $R^1$  es alqueno  $C_{2-6}$ , y PG es Bn en dos etapas. En una primera etapa, la reacción de un compuesto de la

Fórmula (XVIII), donde  $R^1$  es , bajo condiciones oxidantes tales como  $NaIO_4$ , y  $K_2OsO_4 \cdot 2H_2O$  u  $OsO_4$ ; en un solvente adecuado tal como THF/ $H_2O$ ; a temperaturas que varían de 0 °C a temperatura ambiente; durante un período de 48 a 72 horas; proporciona un compuesto intermedio de cetona. En una segunda etapa, la reacción del compuesto intermedio de cetona con un reactivo de Grignard tal como bromuro de metilmagnesio; en un solvente adecuado tal como éter dietilo; a temperaturas que varían de 0 °C a temperatura ambiente; durante un período de 3 a 30 horas; proporciona un compuesto de la Fórmula (XVIII), donde  $R^1$  es alquilo  $C_{1-6}$  sustituido con OH;

## ESQUEMA 11



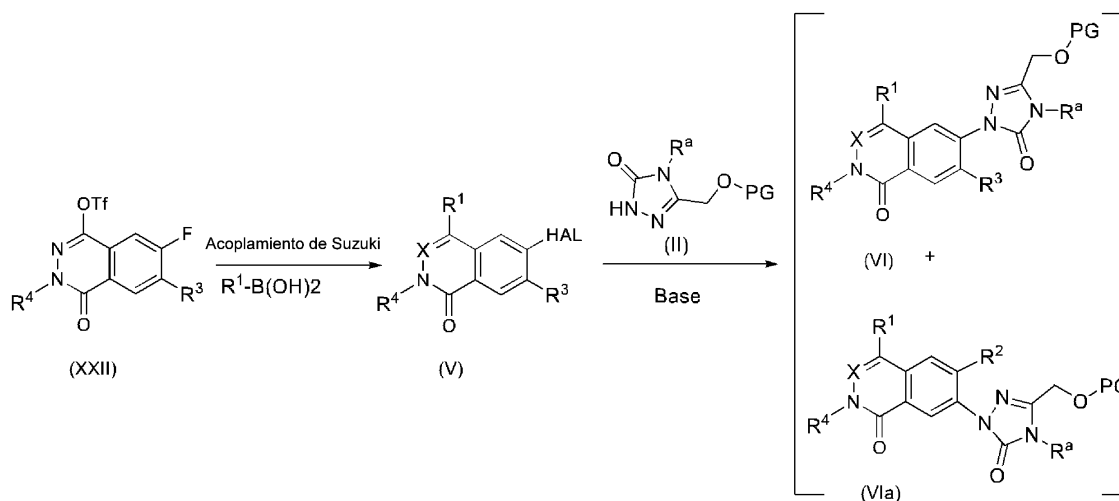
De acuerdo con el Esquema 11, el anhídrido 4,5-difluoroftálico se hace reaccionar

5 con un compuesto de hidrazina de la Fórmula  $\text{R}^4\text{-NHNH}_2$ , donde  $\text{R}^4$  es un fenilo o heteroarilo sustituido adecuadamente, tal como clorhidrato de (2-cloro-6-fluorofenilo)hidrazina; en ácido acético; a una temperatura de aproximadamente  $125\text{ }^\circ\text{C}$ ; durante un período de aproximadamente 1,5 h para obtener un compuesto de la Fórmula (XX), donde  $\text{R}^3$  es F. La reorganización de un compuesto de la Fórmula (XX) ofrece un

10 compuesto de expansión del anillo de la Fórmula (XXI), en condiciones básicas tales como etóxido de sodio o metóxido de sodio; en un solvente prótico tal como etanol, metanol, y lo similar; a temperatura ambiente; durante un período de aproximadamente 1,5 horas. La derivación de un compuesto de la Fórmula (XXI), con un grupo saliente con base de sulfonato tal como trifluorometanosulfonilo (triflato), se logra mediante la reacción con un

15 agente triflante tal como anhídrido trifluorometanosulfónico ( $\text{Tf}_2\text{O}$ ), una base tal como trietilamina (TEA), piridina, y lo similar, en un solvente adecuado tal como DCM y lo similar, para proporcionar un compuesto de la Fórmula (XXII). Pueden usarse agentes triflantes más moderados tales como N-fenilbis (trifluorometanesufonimida) ( $\text{TF}_2\text{NPh}$ ), una base tal como TEA, DIEA, y lo similar, en un solvente adecuado tal como DCM, y lo similar.

## ESQUEMA 12



De acuerdo con el ESQUEMA 12, un compuesto de la Fórmula  $R^1-B(OH)_2$ ; se hace

5 reaccionar en condiciones de acoplamiento de Suzuki descritas anteriormente, con un compuesto de la Fórmula (XXII), para proporcionar un compuesto de la Fórmula (V), donde X es N. Por ejemplo, un compuesto de la Fórmula (XXII), se hace reaccionar un ácido borónico (o éster borónico) comercialmente disponible o sintéticamente accesible tal como  $R^1-B(OH)_2$ , donde  $R^1$  es un alquenilo  $C_{2-6}$  o haloalquenilo  $C_{2-6}$  como se define en la presente

10 descripción con referencia a la Fórmula (Z); un catalizador de paladio tal como dicloruro de 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno-paladio(II) o dicloruro de bis(trifenilfosfina)paladio(II), y lo similar; una base adecuada tal como fosfato de potasio,  $Cs_2CO_3$ ,  $K_2CO_3$ , y lo similar; en un solvente adecuado tal como dioxano, agua, etanol, o una mezcla de estos; para proporcionar un compuesto del compuesto de la Fórmula (V). Un compuesto de la Fórmula (V), donde  $R^1$

15 es alquilo  $C_{2-6}$  o haloalquilo  $C_{2-6}$ , se prepara fácilmente por hidrogenación selectiva de un compuesto de la Fórmula (V), donde  $R^1$  es alquenilo  $C_{2-6}$  o haloalquenilo  $C_{2-6}$ . Por ejemplo,

CC(C)C(F)(F)F

10

The reaction scheme illustrates the synthesis of 2-aminobenzimidazole derivatives (XXV) from 2-alkoxy-1H-benzimidazole-4-carboxamides (XVIII). The process involves two main steps:

- Reaction with (XXIII):** Compound (XVIII) reacts with compound (XXIII) in the presence of a base to form intermediate (XXIV). Compound (XXIII) is a 2-fluoro-4-nitrophenyl derivative with substituents  $R^d$  and  $R^c$ . Intermediate (XXIV) is a 2-alkoxy-1H-benzimidazole-4-carboxamide derivative where the benzimidazole ring is substituted with  $R^1$ ,  $R^3$ , and  $R^a$ , and the phenyl ring is substituted with  $R^d$  and  $R^c$ .
- Reduction:** Intermediate (XXIV) undergoes reduction to yield compound (XXV), which is a 2-aminobenzimidazole derivative with the same substituents as (XXIV).

Alternatively, compound (XXIV) can be converted to compound (XXVI) via diazotization and reduction. Compound (XXVI) is a 2-aminobenzimidazole derivative where the benzimidazole ring is substituted with  $R^1$ ,  $R^3$ , and  $R^a$ , and the phenyl ring is substituted with  $R^d$  and  $R^c$ .

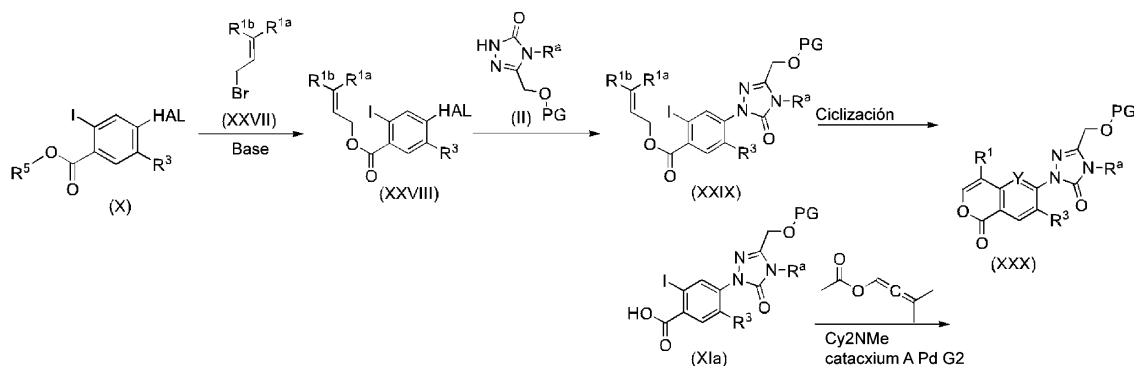
15

Un compuesto de la Fórmula (XVIII), donde  $R^1$  es H, alquenilo  $C_{2-6}$ , haloalquenilo  $C_{2-6}$ , cicloalquilo  $C_{3-6}$ , cicloalquilo  $C_{3-6}$  sustituido con alquilo  $C_{1-6}$ , y X es CH o N, se hace reaccionar bajo las condiciones de reacción de desplazamiento nucleofílico, con un compuesto de flúor comercialmente disponible o sintéticamente accesible de la Fórmula (XXIII); en presencia de una base, tal como  $K_2CO_3$ ,  $Cs_2CO_3$ , y lo similar; en solvente aprótico, tal como DMF, DMSO, y lo similar; a temperaturas que varían de 65 a 100 °C; para proporcionar un compuesto de la Fórmula (XXIV).

La reducción del compuesto de la Fórmula (XXIV) se logra usando zinc o hierro y  $NH_4Cl$ ; en un solvente mezclado de metanol y agua; para proporcionar un compuesto de amino de la Fórmula (XXV).

Diazotización de un compuesto en la Fórmula (XXV) con  $NaNO_2$ ; en una solución acuosa ácida u otros reactivos de nitrito; en un solvente orgánico tal como EtOH y lo similar; a una temperatura de 0 °C; y posteriormente la reducción de grupo diazo con zinc a temperaturas que varían de 0 a 85 °C; o por tratamiento con  $H_3PO_2$ ; proporciona un compuesto de la Fórmula (XXVI), donde  $R^c$  y  $R^d$  son como se define como se describe en la presente descripción con referencia a la Fórmula (Z);

#### ESQUEMA 14



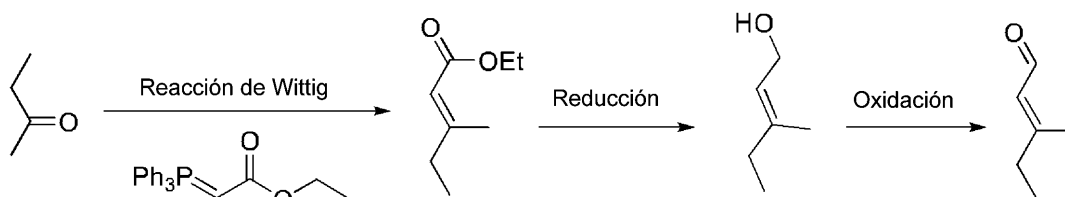
De acuerdo con el Esquema 14, un compuesto de la Fórmula (X), donde HAL es F,  $R^5$  es H y  $R^3$  es F, se hace reaccionar con un compuesto comercialmente disponible o sintéticamente accesible de la Fórmula (XXVII), donde  $R^{1a}$  y  $R^{1b}$  son cada una independientemente H o alquilo  $C_{1-4}$ , tal como 1-bromo-3-metil-2-butenos; en la presencia de una base tal como  $K_2CO_3$ ,  $CS_2CO_3$ , y lo similar; en un solvente adecuado, tal como DMSO, DMF, THF, ACN, y lo similar; para proporcionar un compuesto éster de la Fórmula (XXVIII), donde  $R^3$  es F, y HAL es F. Un compuesto de la Fórmula (XXVIII), donde  $R^{1a}$  y  $R^{1b}$  se seleccionan cada uno independientemente a partir de haloalquilo  $C_{1-4}$  o cicloalquilo  $C_{3-6}$ , puede elaborarse de manera similar. La reacción de un éster de la Fórmula (XXVIII) con una triazolona protegida adecuadamente de la Fórmula (II); en presencia de una base adecuada tal como  $K_3PO_4$ ,  $K_2CO_3$ ,  $CS_2CO_3$ ,  $NaHCO_3$ , trietilamina, y lo similar; en un solvente adecuado, tal como 1,4-dioxano, DMSO, DMF, THF, ACN, y lo similar; proporciona un compuesto de la Fórmula (XXIX). En un método preferido, el PG es Bn, y  $R^a$  es alquilo  $C_{1-6}$ . Un compuesto de la Fórmula (XXIX), donde  $R^3$  es H o F, experimenta una ciclización intramolecular bajo condiciones de reacción de Heck, tales como el uso de un catalizador tal como cloro[(tri-*terc*-butilfosfina)-2-(2 aminobifenilo)]paladio(II) ( $P(tBu_3)PdG_2$ ), N-ciclohexilo-N-metil-ciclohexanamina, en un solvente adecuado tal como tolueno, y lo similar; a una temperatura de aproximadamente 15 a 80 °C; durante un período de aproximadamente 18 a 36 horas; para proporcionar un compuesto de isocumarina de la Fórmula (XXX), donde Y es CH y  $R^1$  es isopropilo,  $R^3$  es H o F,  $R^a$  y PG se definen como se describió anteriormente.

Un compuesto de isocumarina de la Fórmula (XXX), donde  $R^1$  se prepara a partir de un compuesto de la Fórmula (XIa) y acetato de metilbuta-1,2-dien-1-ilo.  El acetato de metilbuta-1,2-dien-1-ilo está disponible comercialmente o se prepara en dos etapas a partir

de 2-metil-3-buten-2-ol. El anhídrido acético se hace reaccionar con 2-metil-3-buten-2-ol, en la presencia de un catalizador tal como  $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$ ; en un solvente adecuado tal como DCM y lo similar; para proporcionar acetato de 2-metilbut-3-en-2-ilo. El acetato de 2-metilbut-3-en-2-ilo se hace reaccionar con una cantidad catalítica de un ácido de Lewis, tal como  $\text{AgBF}_4$ ,  $\text{AgClO}_4$ ,  $\text{PtCl}_2$ , y lo similar; para proporcionar acetato de 3-metilbuta-1,2-dien-1-ilo. El acetato de 3-metilbuta-1,2-dien-1-ilo se acopla con un compuesto de la Fórmula (XIa), donde  $\text{R}^5$  es H, usando ciclización intermolecular en condiciones de reacción de Heck como se describió anteriormente, tal como al usar un catalizador tal como Catexium A Pd G2, y acetato  $\text{Cy}_2\text{NMe}$  de paladio (II), reactivo de transferencia de fase como bromuro de tetrabutilamonio, y una base como acetato de potasio, en un solvente adecuado tal como DMF, y lo similar; a una temperatura de 70 a 90 °C; durante un período de 10 a 16 horas; para proporcionar el compuesto de isocumarina de la Fórmula (XXX), donde Y es CH y  $\text{R}^1$  es .

Un compuesto de la Fórmula (XXX), donde Y es CH y  $\text{R}^1$  es  se reduce selectivamente en condiciones de hidrogenación que usan un catalizador tal como el catalizador de Wilkinson  $[\text{RhCl}(\text{PPh}_3)_3]$  y lo similar, en un disolvente adecuado tal como THF, y lo similar; a temperatura ambiente, proporciona un compuesto de isocumarina de la Fórmula (XXX), en donde  $\text{R}^1$  es isopropilo.

### ESQUEMA 15



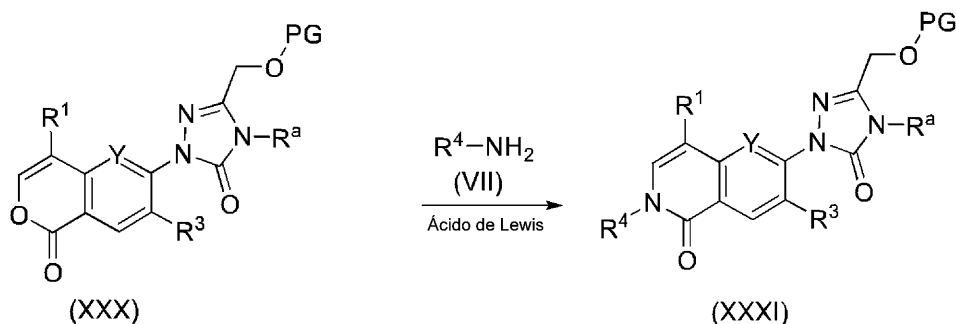
De acuerdo con el Esquema 15, la 2-butanona se convierte en etil 3-metilpent-2-enoato usando condiciones de reacción de Wittig conocidas por un experto en la técnica. Por ejemplo, la 2-butanona se hace reaccionar con un yoduro de trifenil fosfonio tal como (carbetoximetileno) trifenilfosforano, con o sin un aditivo tal como ácido benzoico, LiCl, y

5 dodecil sulfato de sodio (SDS), y lo similar, en un solvente adecuado tal como tolueno, a temperaturas en el intervalo de temperatura ambiente a la temperatura de reflujo del solvente, durante un período de 12-24 h. Se reduce etil 3-metilpent-2-enoato a 3-metilpent-2-en-1-ol usando un agente reductor adecuado tal como DIBAL-H, en un solvente adecuado tal como tolueno, y lo similar, a temperaturas que varían de -78 °C a temperatura

10 ambiente. 3-metilpent-2-en-1-ol se oxida a 3-metilpent-2-enal usando condiciones de oxidación conocidas por un experto en la técnica, por ejemplo, DMP (periyodinano de Dess-Martin), SO<sub>3</sub>-piridina, condiciones de Swern [(COCl)<sub>2</sub>, DMSO, Et<sub>3</sub>N], PCC y lo similar, en un solvente tal como EtOAc, DMSO, DCM y lo similar, a temperaturas que varían de aproximadamente -78 °C a temperatura ambiente (aproximadamente 23 °C). En un

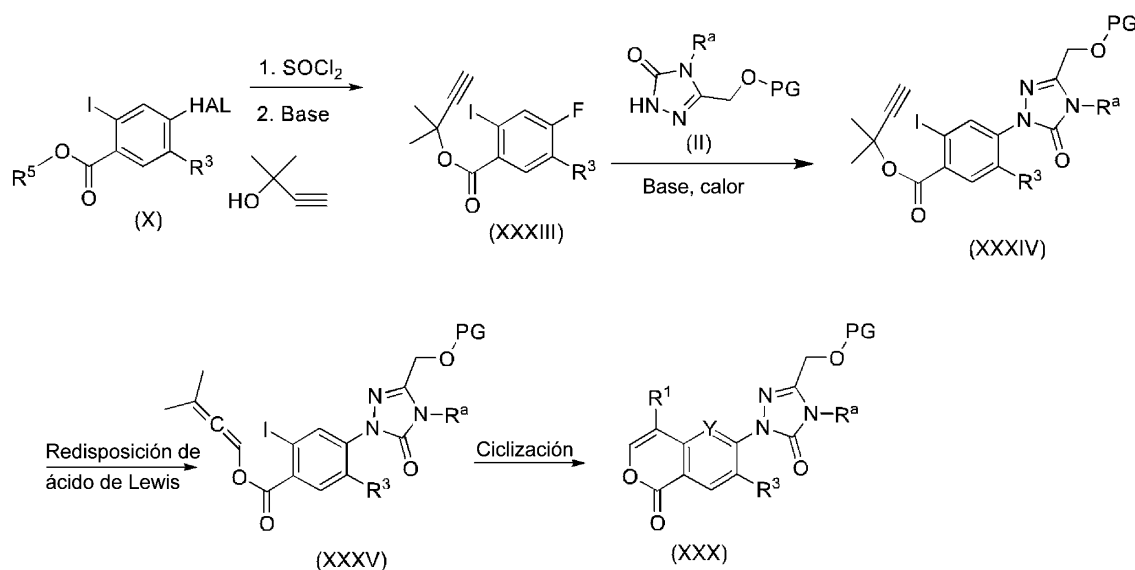
15 método preferido, el 3-metilpent-2-en-1-ol se oxida a 3-metilpent-2-enal con periyodinano Dess-Martin, en DCM, a 25 °C durante un período de 1-4 h.

## ESQUEMA 16



De acuerdo con el Esquema 16, una isocumarina del compuesto de la Fórmula (XXX), donde Y es CH, se hace reaccionar con un compuesto amina comercialmente disponible o sintéticamente accesible de la Fórmula  $R^4-NH_2$ , donde  $R^4$  es como se define en la presente descripción con referencia a la Fórmula (Z); un ácido de Lewis tal como  $AlMe_3$ ,  $AlCl_3$ , y lo similar; en un solvente aprótico adecuado, tal como DCM, tolueno, y lo similar; para proporcionar un compuesto de la Fórmula (XXXI), donde Y es CH, y  $R^1$ ,  $R^3$ ,  $R^4$  y  $R^a$  se definen como se describe en la presente descripción con referencia a la Fórmula (Z);

## ESQUEMA 17



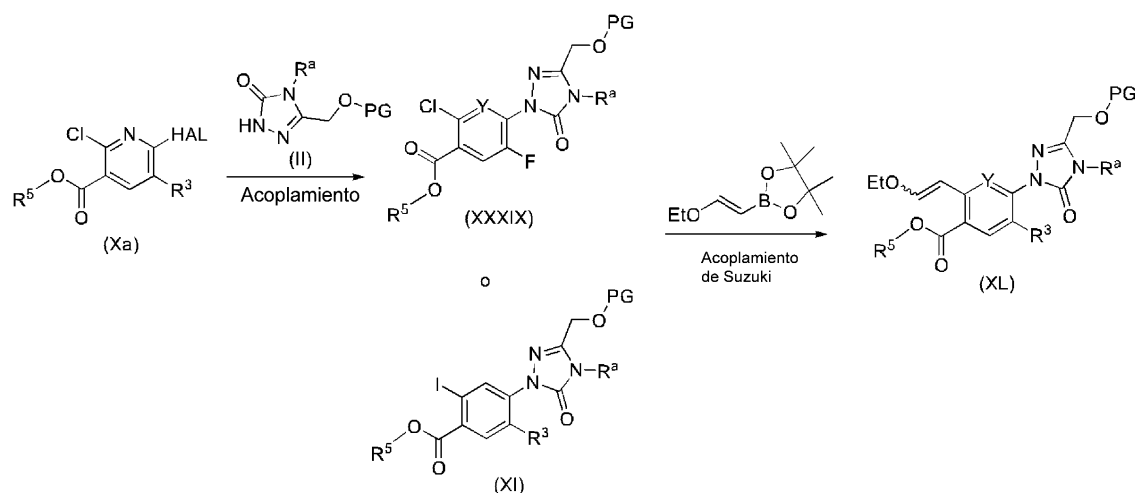
10

Un compuesto de isocumarina de la Fórmula (XXX) puede prepararse de acuerdo con el Esquema 17. El cloruro de 4,5-difluoro-2-yodobenzoilo se prepara a partir de un compuesto de la Fórmula (X), donde HAL es F,  $R^5$  es H y  $R^3$  es F, usando condiciones conocidas por un experto en la técnica tales como cloruro de oxalilo o cloruro de tionilo, en la presencia de una cantidad catalítica de DMF, en un solvente adecuado tal como un

15

solvente no polar aprótico tal como diclorometano (DCM), tetrahidrofurano (THF), acetonitrilo (ACN), tolueno, y lo similar, a temperaturas que varían de 0 °C a temperatura ambiente para formar cloruro de 4,5-difluoro-2-yodobenzoilo. El cloruro de 4,5-difluoro-2-yodobenzoilo puede hacerse reaccionar con 2-metilbut-3-in-2-ol comercialmente disponible o sintéticamente accesible, en la presencia de una base tal como trietilamina y DMAP; en un solvente adecuado tal como DCM y lo similar; para producir un compuesto de la Fórmula (XXXIII). Un compuesto de la Fórmula (XXXIII) puede hacerse reaccionar con un compuesto de la Fórmula (II) como se describió previamente para proporcionar un compuesto de la Fórmula (XXXIV). El tratamiento de un compuesto de la Fórmula (XXXIV) con una cantidad catalítica de un ácido de Lewis tal como  $\text{AgClO}_4$ ,  $\text{PtCl}_2$ , y lo similar; para proporcionar el compuesto reorganizado de la Fórmula (XXXV). Un compuesto de la Fórmula (XXXV), donde  $\text{R}^3$  es H o F, puede someterse a una ciclización intramolecular en condiciones de reacción de Heck, tales como el uso de un catalizador tal como acetato de paladio (II), un reactivo de transferencia de fase como bromuro de tetrabutilamonio, y una base como acetato de potasio, en un solvente adecuado tal como DMF, y lo similar; a una temperatura de 70 a 90 °C; durante un período de 1 a 3 horas; para proporcionar un compuesto de la Fórmula (XXX), donde Y es CH.

## ESQUEMA 18



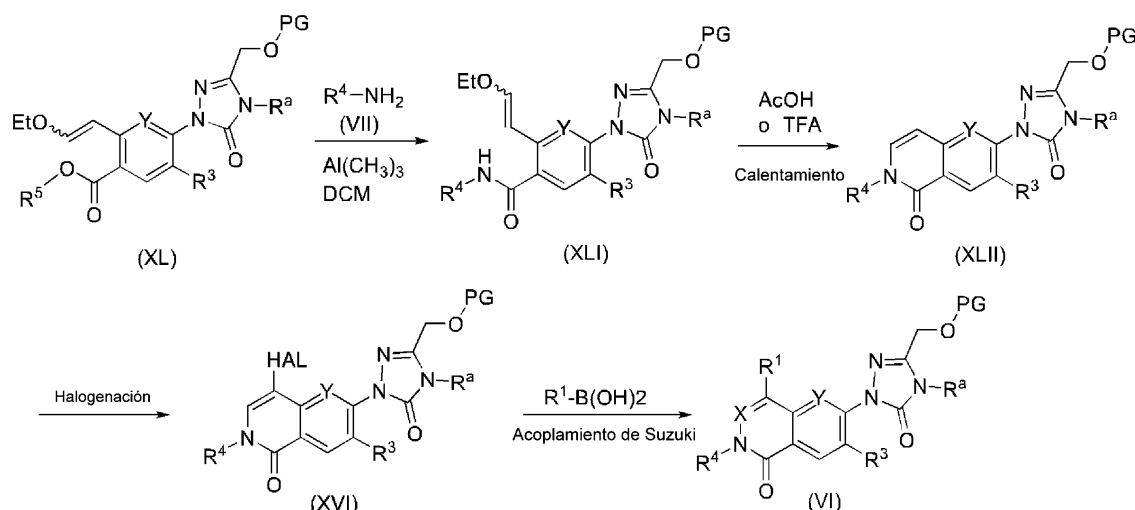
De acuerdo con el Esquema 18, un compuesto de la Fórmula (Xa), donde HAL es Cl,

5 R<sup>5</sup> es CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, y R<sup>3</sup> es F, está comercialmente disponible o sintéticamente accesible de acuerdo con los métodos descritos en Chen, et al, publicación de patente de los EE. UU. núm. US2016-0176869. La reacción de un compuesto de la Fórmula (Xa) con un compuesto nucleofílico disponible comercialmente o accesible sintéticamente de la Fórmula (II), donde PG es bencilo y R<sup>c</sup> es alquilo C<sub>1-6</sub>; en presencia de una base tal como K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, NaHCO<sub>3</sub>, trietilamina, y lo similar; en un solvente adecuado tal como dimetilsulfóxido (DMSO), DMF, THF, ACN y lo similar; proporciona un compuesto de la Fórmula (XXXIX), donde Y es N. Un compuesto de la Fórmula (XXXIX) o de la Fórmula (XI), donde R<sup>3</sup> es F, y R<sup>5</sup> es alquilo C<sub>1-4</sub>; se hace reaccionar un éster de pinacol de ácido 1-etoxieteno-2-borónico comercialmente disponible; un catalizador de paladio tal como dicloruro de bis(trifenilfosfina)paladio(II), dicloruro 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno-paladio(II), y lo similar;

15 una base adecuada tal como Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> y lo similar; en un solvente adecuado tal como dioxano,

agua, etanol, o una mezcla de estos; usando calentamiento convencional o por microondas; para proporcionar un compuesto de la Fórmula (XL), donde Y es N o CH;

## ESQUEMA 19



5

De acuerdo con el ESQUEMA 19, un compuesto de la fórmula R<sup>4</sup>-NH<sub>2</sub>, donde R<sup>4</sup> es como se define en la presente descripción con referencia a la Fórmula (Z); se hace reaccionar con trimetilaluminio; en un solvente adecuado tal como diclorometano, tolueno, o una mezcla de estos; la solución resultante se combina con un compuesto de la Fórmula (XL), donde Y es CH o N; para proporcionar un compuesto de la Fórmula (XLI). Un compuesto de la Fórmula (XLI), donde Y es CH o N, se trata con ácido acético o ácido trifluoroacético en condiciones de calentamiento entre 50 °C a 90 °C, para proporcionar un compuesto de la Fórmula (XLII). Un compuesto de la Fórmula (XLII) se halogena usando N-bromosuccinimida en dimetilformamida anhidra a temperatura ambiente, para proporcionar un compuesto de la Fórmula (XVI), donde HAL es Br. Un compuesto de la Fórmula R<sup>1</sup>-B(OH)<sub>2</sub>; se hace reaccionar bajo condiciones de acoplamiento de Suzuki conocidas para un

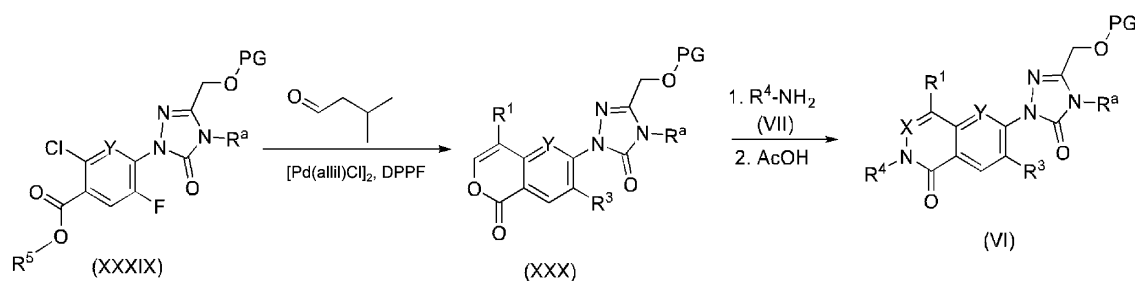
10

15

experto en la técnica, o como se describió previamente con un compuesto de la Fórmula (XVI), para proporcionar un compuesto de la Fórmula (VI), donde  $R^1$  es un alquenilo  $C_{2-6}$ , haloalquenilo o arilo  $C_{2-6}$ , sustituido opcionalmente como se define en la presente descripción con referencia a la Fórmula (Z);. Un compuesto de la Fórmula (VI), donde  $R^1$  es un alquenilo

5  $C_{2-6}$  o haloalquenilo  $C_{2-6}$  opcionalmente sustituido se hace reaccionar en condiciones de hidrogenación usando el catalizador de Wilkinson ( $(PPh_3)_3RhCl$ ) para proporcionar un compuesto de la Fórmula (VI), donde  $R^1$  es alquilo  $C_{2-6}$  o haloalquilo  $C_{2-6}$ .

## ESQUEMA 20



De acuerdo con el Esquema 20, 3-metilbutanal se hace reaccionar con un compuesto de la Fórmula (XXXIX), donde Y es N y  $R^5$  es  $CH(CH_3)_2$ , con un catalizador de paladio tal como dímero de cloruro de alilpaladio(II), y lo similar; un ligando tal como 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno (dppf), y lo similar; una base adecuada tal como  $Cs_2CO_3$  y lo

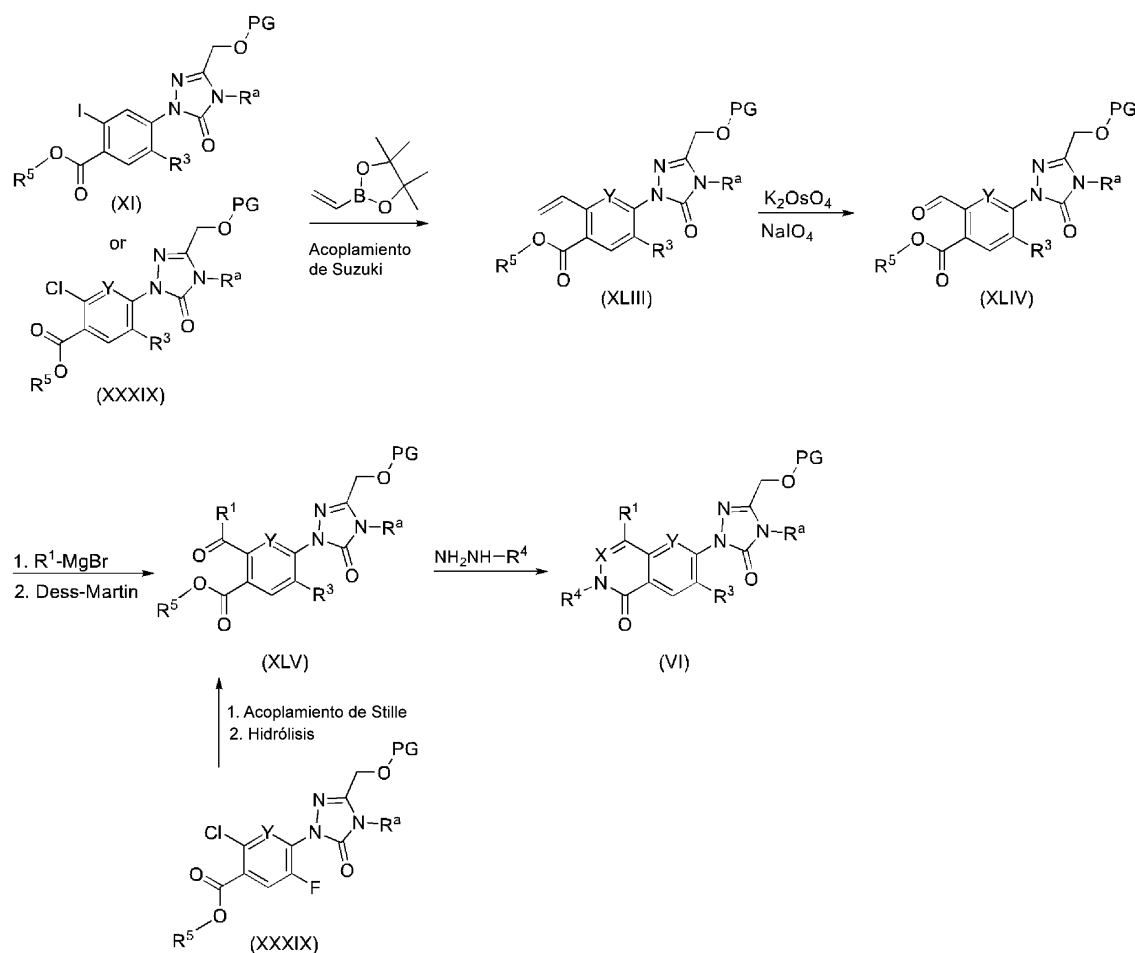
15 similar; en la presencia de un depurador de agua tal como tamiz molecular (4A); en un solvente adecuado tal como dioxano de este; para proporcionar un compuesto de la Fórmula (XXX), donde  $R^1$  es isopropilo. Un compuesto de la Fórmula  $R^4-NH_2$ , donde  $R^4$  es como se define en la presente descripción con referencia a la Fórmula (Z); se hace reaccionar con

20 trimetilaluminio; en un solvente adecuado tal como diclorometano, tolueno, o una mezcla de

estos; la solución resultante se combina con un compuesto de la Fórmula (XXX), seguido por el tratamiento posterior con ácido acético bajo temperatura de calentamiento de 80-100 °C por un periodo de tiempo en el intervalo de 5 a 24 horas; para proporcionar un compuesto de la Fórmula (VI). en donde X es CH, Y es N, R<sup>1</sup> es isopropilo, R<sup>3</sup> es F.

5

## ESQUEMA 21



De acuerdo con el Esquema 21, un compuesto de la Fórmula (XXXIX), donde R<sup>3</sup> es

10 F, y R<sup>5</sup> es alquilo C<sub>1-4</sub>; se hace reaccionar un éster de pinacol de ácido vinilborónico comercialmente disponible; un catalizador de paladio tal como dicloruro de

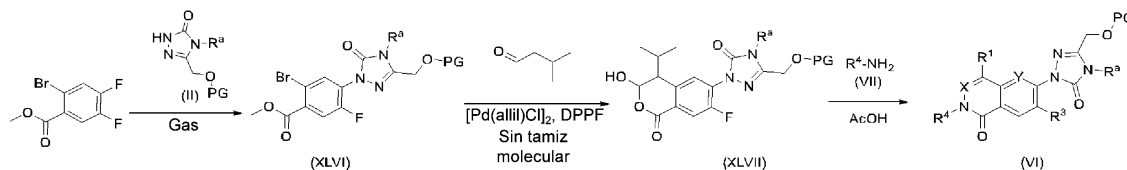
bis(trifenilfosfina)paladio(II) o complejo 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno-dicloruro de paladio(II), y lo similar; una base adecuada tal como  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  y lo similar; en un solvente adecuado tal como dioxano, agua, etanol, o una mezcla de estos; para proporcionar un compuesto del compuesto de la Fórmula (XLIII), donde Y es N o CH. El grupo vinilo en un  
 5 compuesto de la Fórmula (XLIII) se convierte selectivamente en un grupo aldehído de la Fórmula (XLIV) usando osmato potásico (VI) dihidrato/ peryodato sódico, o ozonólisis, y lo similar. Un compuesto de la Fórmula (XLIV) se hace reaccionar con un reactivo de alquilo Grignard sustituido comercialmente disponible o sintéticamente accesible, tal como  $i\text{-PrMgCl}$ , y lo similar; en solvente aprótico como THF, y lo similar; seguido de un tratamiento posterior  
 10 con un reactivo oxidante tal como reactivo de Dess-Martin, o condiciones de oxidación de Swern, y lo similar; para producir un compuesto de cetona de la Fórmula (XLV).

Un compuesto de la Fórmula (XLV) se prepara a partir de un compuesto de la Fórmula (XXXIX) en dos etapas. Un compuesto de la Fórmula (XXXIX), donde  $\text{R}^3$  es F, y  $\text{R}^5$  es alquilo  $\text{C}_{1-4}$ ; se hace reaccionar un tributil(1-etoxivinil)estaño disponible comercialmente; un  
 15 catalizador de paladio tal como dicloruro de bis(trifenilfosfina)paladio(II), dicloruro 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno-paladio(II), y lo similar; en un solvente adecuado tal como dioxano, agua, etanol, o una mezcla de estos; La hidrólisis ácida posterior que usa condiciones tales como tratamiento con solución de HCl acuoso a temperatura ambiente proporciona un compuesto de la Fórmula (XLV), donde X es N, Y es N o CH,  $\text{R}^1$  es metilo.

20 Una hidrazina comercialmente o sintéticamente disponible  $\text{R}^4\text{-NHNH}_2$ , donde  $\text{R}^4$  es como se define en la presente descripción con referencia a la Fórmula (Z), tal como 2-cloro-6-fluorofenilhidrazina, o-tolilhidrazina; se condensa con un compuesto de la Fórmula (XLV); en la presencia de una base tal como carbonato de potasio, y lo similar; en condiciones de calentamiento tales como 70-120 °C; en un solvente adecuado tal como tolueno, o una

mezcla de estos; proporciona un compuesto de la Fórmula (VI), donde X es N, Y es CH o N, y R<sup>4</sup> es como se define en la presente descripción con referencia a la Fórmula (Z).

## ESQUEMA 22

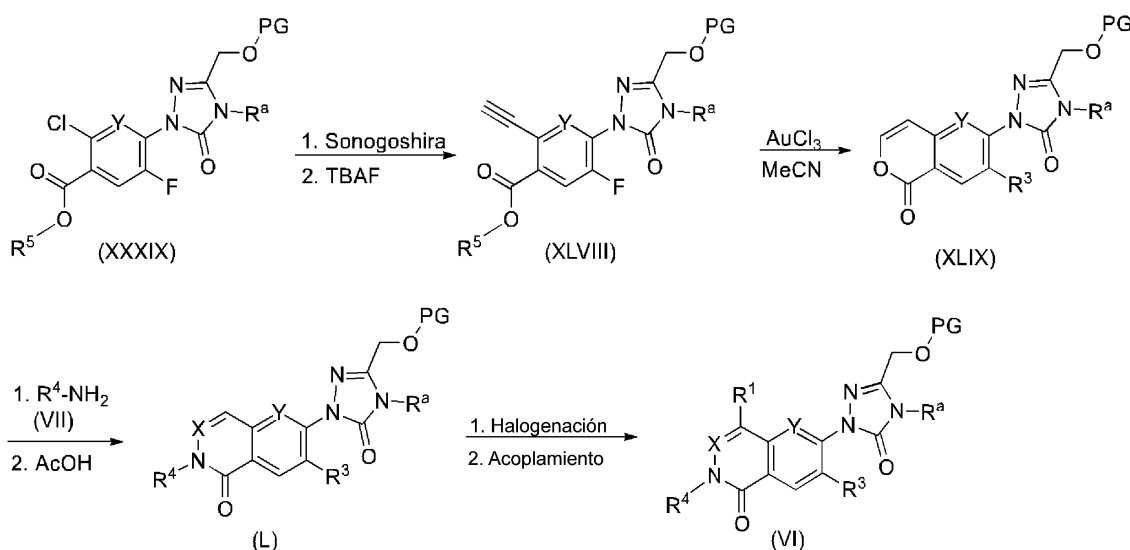


De acuerdo con el Esquema 22, la reacción de 2-bromo-4,5-difluorobenzoato de metilo con un compuesto de triazolona protegido adecuadamente de la Fórmula (II); en presencia de una base adecuada tal como K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, NaHCO<sub>3</sub>, trietilamina, y lo similar; en un solvente adecuado, tal como 1,4-dioxano, DMSO, DMF, THF, ACN, y lo similar; proporciona un compuesto de la Fórmula (XLVI). En un método preferido, PG es Bn, y R<sup>a</sup> es alquilo C<sub>1-6</sub> (como se describió anteriormente en el Esquema 14). 3-metilbutanal se hace reaccionar con un compuesto de la Fórmula (XLVI), con un catalizador de paladio, tal como dímero de cloruro de alilpaladio(II), y lo similar; un ligando tal como 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno (dppf), y lo similar; una base adecuada tal como Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> y lo similar; en ausencia de depurador de agua tal como tamiz molecular (4A); en un solvente adecuado tal como dioxano de este; para proporcionar un compuesto de la Fórmula (XLVII). Un compuesto de la Fórmula R<sup>4</sup>-NH<sub>2</sub>, donde R<sup>4</sup> es como se define en la presente descripción con referencia a la Fórmula (Z); se hace reaccionar con trimetilaluminio; en un solvente adecuado tal como diclorometano, dicloroetano, tolueno, o una mezcla de estos; la solución resultante se combina con un compuesto de la Fórmula (XLVII), seguido por el tratamiento posterior con ácido acético bajo temperatura de

calentamiento de 80-100 °C por un periodo de tiempo en el intervalo de 5 a 24 horas; para proporcionar un compuesto de la Fórmula (VI). donde X es CH, Y es CH, R<sup>1</sup> es isopropilo, R<sup>3</sup> es F. En ciertos casos, un compuesto de la Fórmula R<sup>4</sup>-NH<sub>2</sub> tal como o-toluidina y lo similar; se condensa directamente con un compuesto del compuesto de la

5 Fórmula (XLVII) en ácido acético bajo temperatura de calentamiento de 80-100 °C por un período de tiempo en el intervalo de 10 a 24 horas; para proporcionar un compuesto de la Fórmula (VI). en donde X, Y, R<sup>1</sup>, R<sup>3</sup> se definieron anteriormente.

## ESQUEMA 23



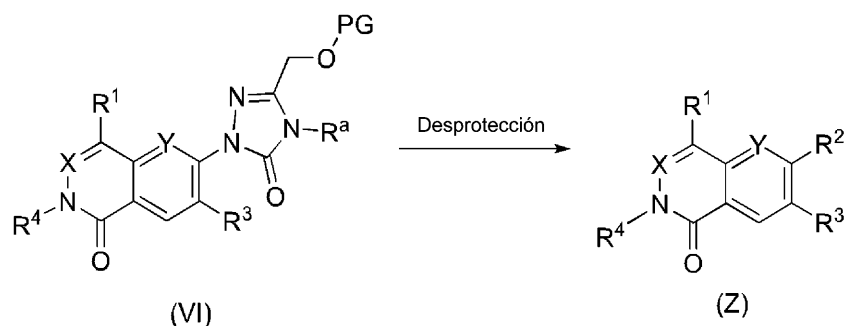
De acuerdo con el Esquema 23, un compuesto de la Fórmula (XXXIX), donde R<sup>5</sup> es alquilo C<sub>1-4</sub>, Y es N, y R<sup>3</sup> es F, se somete a una reacción de acoplamiento de Sonogashira con un alquino protegido con sililo, tal como trimetilsililacetileno, un catalizador de paladio, tal como dicloruro de paladio(II)bis(trifenilfosfina) y lo similar; un catalizador de cobre tal como yoduro de cobre, y lo similar; y una base adecuada, tal como trietilamina; en un solvente

10

15

adecuado tal como ACN, tolueno, y lo similar. La reacción de desprotección usando TBAF en un solvente adecuado tal como THF, y lo similar; a temperatura ambiente proporciona un compuesto de la Fórmula (XLVIII). Un compuesto de la Fórmula (XLIX) se obtiene usando un catalizador de oro, preferentemente,  $\text{AuCl}_3$  en una mezcla de solventes adecuada, tal como MeCN. La transformación similar por ciclización  $\text{AuCl}_3$ -catalizada ha sido descrita por Marchal, E. et al. en *Tetrahedron* 2007, 63, 9979-9990. Un compuesto de la Fórmula  $\text{R}^4\text{-NH}_2$ , donde  $\text{R}^4$  es como se define en la presente descripción con referencia a la Fórmula (Z); se hace reaccionar con trimetilaluminio; en un solvente adecuado tal como diclorometano, dicloroetano, tolueno, o una mezcla de estos; la solución resultante se combina con un compuesto de la Fórmula (XLIX), seguido por el tratamiento posterior con ácido acético bajo temperatura de calentamiento de 80-100 °C por un periodo de tiempo en el intervalo de 5 a 24 horas; para proporcionar un compuesto de la Fórmula (L). Usar NBS en un solvente adecuado, preferentemente, DMF, a temperatura ambiente seguido por acoplamiento cruzado usando condiciones conocidas por un experto en la técnica, preferentemente un catalizador de paladio tal como dicloruro de paladio(II)bis(trifenilfosfina), una base tal como  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , y lo similar; en una mezcla de solventes compuesta de 1,4-dioxano y agua; a una temperatura de 100 °C, proporciona un compuesto de la Fórmula (VI), en donde X es CH, Y es N,  $\text{R}^3$  es F y  $\text{R}^1$ ,  $\text{R}^a$  y PG se definen como se describió anteriormente.

## ESQUEMA 24



De acuerdo con el ESQUEMA 24, un compuesto de la Fórmula (VI), donde PG es Bn, se desprotege usando condiciones conocidas por un experto en la técnica, preferentemente en TFA puro en un tubo sellado, a una temperatura de aproximadamente 60 a 90 °C; o usando BCl<sub>3</sub>, a una temperatura de aproximadamente -78 °C, en un solvente adecuado tal como en DCM; o tratamiento con gas hidrógeno, en la presencia de un catalizador tal como paladio sobre carbono (Pd/C), para proporcionar un compuesto de Fórmula (Z).

De manera similar, la N-arilación y desprotección de TBDPS *in situ* de un compuesto de la Fórmula (XVIII), donde R<sup>1</sup> es I y PG es TBDPS, y X es N; se logra usando condiciones conocidas por un experto en la técnica o como se describió anteriormente, para proporcionar un compuesto de Fórmula (Z).

Un compuesto de Fórmula (I), donde R<sup>3</sup> es F se hace reaccionar en una reacción de sustitución aromática nucleofílica para proporcionar un compuesto de Fórmula (Z), donde R<sup>3</sup> es OCH<sub>3</sub>. Por ejemplo, la reacción de un compuesto de Fórmula (Z), donde R<sup>3</sup> es F, con una base adecuada tal como NaOH, y lo similar; en un solvente adecuado tal como MeOH, y lo similar; para proporcionar un compuesto de Fórmula (Z), donde Y es CH y R<sup>3</sup> es OCH<sub>3</sub>.

Los compuestos de Fórmula (Z) pueden convertirse en sus sales correspondientes usando métodos conocidos por el experto en la técnica. Por ejemplo, una amina de

Fórmula (Z) se trata con ácido trifluoroacético, HCl o ácido cítrico en un solvente, tal como Et<sub>2</sub>O, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, THF, MeOH, cloroformo o isopropanol para proporcionar la forma de la sal correspondiente. Alternativamente, se obtienen las sales de ácido trifluoroacético o ácido fórmico como un resultado de las condiciones de purificación por HPLC de fase inversa.

- 5 Las formas cristalinas de las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de Fórmula (Z) pueden obtenerse en forma cristalina mediante recristalización de solventes polares (que incluyen mezclas de solventes polares y mezclas acuosas de solventes polares) o de solventes no polares (que incluyen mezclas de solventes no polares).

Cuando los compuestos de acuerdo con esta invención tienen al menos un centro  
10 quiral, pueden existir, en consecuencia, como enantiómeros. Cuando los compuestos tienen dos o más centros quirales, estos pueden existir además como diastereómeros. Se entiende que tales isómeros y mezclas de estos se incluyen dentro del alcance de la presente invención.

Los compuestos preparados de acuerdo con los esquemas descritos  
15 anteriormente pueden obtenerse como formas únicas, tal como enantiómeros únicos, mediante la síntesis específica de la forma o mediante resolución. Los compuestos preparados de acuerdo con los esquemas anteriores pueden obtenerse alternativamente como mezclas de diversas formas, tal como mezclas racémicas (1:1) o no racémicas (no 1:1). Cuando se obtienen mezclas racémicas y no racémicas de enantiómeros, los  
20 enantiómeros únicos pueden aislarse mediante métodos de separación convencionales conocidos por un experto en la técnica, tales como cromatografía quiral, recristalización, formación de sales diastereoméricas, derivación en aductos diastereoméricos, biotransformación o transformación enzimática. Cuando se obtienen mezclas

regioisoméricas o diastereoméricas, según corresponda, los isómeros únicos pueden separarse mediante métodos convencionales como cromatografía o cristalización.

Los siguientes ejemplos específicos se ofrecen para ilustrar mejor los compuestos de la Fórmula (Z) y las distintas modalidades preferidas.

5

## EJEMPLOS

En la obtención de los compuestos de la Fórmula (Z) descritos en los ejemplos a continuación y los datos analíticos correspondientes se siguieron los protocolos experimentales y analíticos que se indican a continuación a menos que se indicara de  
10 otra manera.

A menos que se indique de cualquier otra manera, las mezclas de reacción se agitaron magnéticamente a temperatura ambiente (ta) en una atmósfera de nitrógeno. En el caso de las soluciones “secas”, generalmente, estas se secaron con un agente de secado, tal como  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  o  $\text{MgSO}_4$ . Cuando las mezclas, soluciones y extractos fueron  
15 “concentrados”, se concentraron típicamente en un evaporador rotatorio a presión reducida.

La cromatografía en gel de sílice de fase normal (FCC) se realizó en gel de sílice ( $\text{SiO}_2$ ) usando cartuchos envasados previamente.

La cromatografía líquida de alta eficacia de fase inversa preparativa (RP HPLC) se realizó en:

20 MÉTODO A. Una HPLC semipreparativa Gilson GX-281 con Phenomenex Synergi C18 (10  $\mu\text{m}$ , 150 x 25 mm), o Boston Green ODS C18(5  $\mu\text{m}$ , 150 x 30 mm), y fase móvil de 5-99 % de ACN en agua (con 0,225 % de FA) durante 10 minutos y, después, se mantuvo a 100 % de ACN durante 2 minutos, a una velocidad de flujo de 25 ml/min. o

MÉTODO B. Una HPLC semipreparativa Gilson GX-281 con Phenomenex Synergi C18 (10  $\mu$ m, 150 x 25 mm), o Boston Green ODS C18(5  $\mu$ m, 150 x 30 mm), y fase móvil de 5-99 % de ACN en agua (con 0,1 % de TFA) durante 10 minutos y, después, se mantuvo a 100 % de ACN durante 2 minutos, a una velocidad de flujo de 25 ml/min. o

5 MÉTODO C. Una HPLC semipreparativa Gilson GX-281 con Phenomenex Synergi C18 (10  $\mu$ m, 150 x 25 mm), o Boston Green ODS C18(5  $\mu$ m, 150 x 30 mm), y fase móvil de 5-99 % de ACN en agua (0,05 % de HCl) durante 10 minutos y, después, se mantuvo a 100 % de ACN durante 2 minutos, a una velocidad de flujo de 25 ml/min. o

10 MÉTODO D. Una HPLC semipreparativa Gilson GX-281 con la columna C18 Phenomenex Gemini (10  $\mu$ m, 150 x 25 mm), AD (10  $\mu$ m, 250 mm x 30 mm), o C18 Waters XBridge (5  $\mu$ m, 150 x 30 mm), fase móvil de ACN al 0-99 % en agua (con hidróxido de amonio al 0,05 % v/v) durante 10 minutos y, después, se mantuvo en ACN al 100 % durante 2 minutos, a una velocidad de flujo de 25 ml/min. o

15 MÉTODO E. Una HPLC semipreparativa Gilson GX-281 con Phenomenex Gemini C18 (10  $\mu$ m, 150 x 25 mm),o columna Waters XBridge C18 (5  $\mu$ m, 150 x 30 mm), fase móvil de 5-99 % de ACN (10 mM de  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ ) durante 10 minutos y, después, se mantuvo a 100 % de ACN durante 2 minutos, a una velocidad de flujo de 25 ml/min.

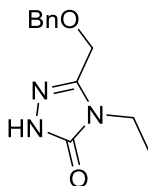
20 La cromatografía de líquidos de alto rendimiento con fluido supercrítico preparativo (SFC, por sus siglas en inglés) se realizó en un sistema Thar 80 Prep-SFC, o un sistema Waters 80 Q Preparativa-SFC de Waters. El ABPR se fijó en 100 bar para mantener el  $\text{CO}_2$  en condiciones SF, y el caudal puede verificarse de acuerdo con las características del compuesto con una velocidad de flujo que varía de 50 g/min a 70 g/min. La temperatura de columna fue temperatura ambiente

Los espectros de masas (MS, por sus siglas en inglés) se obtuvieron en un SHIMADZU LCMS-2020 MSD o Agilent 1200\G6110A MSD usando ionización por electrorrociado (ESI, por sus siglas en inglés) en modo positivo, a menos que se indique de cualquier otra manera. La masa calculada (calc.) corresponde a la masa exacta.

5 Los espectros de resonancia magnética nuclear (NMR, por sus siglas en inglés) se obtuvieron en espectrómetros Bruker modelo AVIII 400. Las definiciones para multiplicidad son como sigue: s = singulete, d = doblete, t= triplete, q = cuádruplete, dd = doblete de dobletes, ddd = doblete de doblete de dobletes, td = triplete de dobletes, dt = doblete de triplete, spt = septet, quin = quinteto, m = multiplete, br = amplio. Se entenderá  
10 que para los compuestos que comprenden un protón intercambiable, dicho protón pueden ser visibles o no en un espectro de NMR dependiendo de la elección del solvente que se use para correr el espectro de NMR y la concentración del compuesto en la solución.

Los nombres químicos se generaron usando ChemDraw Ultra 12.0, ChemDraw Ultra 14.0 (CambridgeSoft Corp., Cambridge, MA) o ACD/Nombre Versión 10.01  
15 (Advanced Chemistry). Los compuestos designados como R\* o S\* son compuestos enantiopuros donde la configuración absoluta no se determinó.

Intermedio 1: 3-((benciloxi)metil)-4-etil-1H-1,2,4-triazol-5(4H)-ona.

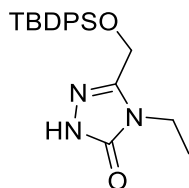


EtapA A. 2-(benciloxi)acetohidrazida.

A una solución de 2-(benciloxi)acetato de etilo (55 g, 283,17 mmol) en EtOH (500 ml) se añadió  $\text{NH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (28,3 g, 566 mmol, 27,5 ml). La mezcla de reacción se calentó a 78 °C durante 6 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para proporcionar el producto del título (52 g, crudo) como un aceite incoloro, que se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación adicional.

EtapA B. 3-((benciloxi)metil)-4-etil-1H-1,2,4-triazol-5(4H)-ona.

A una solución de 2-(benciloxi)acetohidrazida (52 g, 288 mmol) en  $\text{H}_2\text{O}$  (500 ml) se añadió isocianatoetano gota a gota (25,1 g, 346 mmol, 27,9 ml) a 0 °C. Después de que la adición se completó, la mezcla se agitó a 25 °C durante 12 horas. A la mezcla se añadió  $\text{H}_2\text{O}$  (20 ml), y una solución acuosa (120 ml) de NaOH (57,7 g, 1,44 mol). La mezcla se agitó a 95 °C durante 12 hora. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, después se inactivó con HCl (12 M) a 0 °C y se ajustó a “pH” 6. El sólido se filtró y se secó bajo presión reducida para proporcionar el compuesto del título como un sólido blanco (61 g, 91 % de rendimiento).  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  -9,23 - 9,09 (m, 1H), -7,41 - 7,31 (m, 5H), -4,58 - 4,53 (m, 2H), -4,45 - 4,42 (m, 2H), -3,82 - 3,75 (m, 2H), -1,33 - 1,29 (m, 3H) ppm.

Intermedio 2: 5-(((terc-butildifenilsilil)oxi)metil)-4-etil-2,4-dihidro-3H-1,2,4-triazol-3-ona.

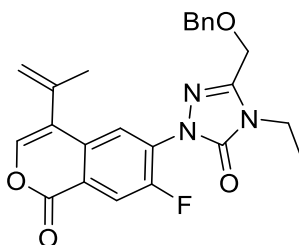
Etapa A. 4-etil-5-(hidroximetil)-2,4-dihidro-3H-1,2,4-triazol-3-ona.

A una solución de 5-[(benciloxi)metil]-4-metil-2,4-dihidro-3H-1,2,4-triazol-3-ona (8 g, 34,3 mmol, 1,0 eq.) en metanol (200 ml) se añadió Pd/C (2 g). La mezcla resultante se mantuvo en hidrógeno y se agitó a temperatura ambiente durante 6 horas. Después, la mezcla resultante se filtró y el filtrado se concentró para producir el producto crudo 4-etil-5-(hidroximetil)-2,4-dihidro-3H-1,2,4-triazol-3-ona como un sólido blanco (4,3 g, 88 % de rendimiento). <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 11,52 (s, 1H), 5,55 (t, *J* = 5,50 Hz, 1H), 4,32 (d, *J* = 5,50 Hz, 2H), 3,64 (q, *J* = 6,97 Hz, 2H), 1,18 (t, *J* = 6,97 Hz, 3H) ppm.

Etapa B. 5-(((*tert*-butildifenilsilil)oxi)metil)-4-etil-2,4-dihidro-3H-1,2,4-triazol-3-ona.

A una solución de 4-etil-5-(hidroximetil)-2,4-dihidro-3H-1,2,4-triazol-3-ona (3 g, 21 mmol, 1,0 eq.) en DCM (30 ml) se añadió *tert*-butilclorodifenilsilano (6,5 ml, 25 mmol, 1,2 eq.) y piridina (1,86 ml, 23 mmol, 1,1 eq.). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se inactivó con agua (100 ml). La mezcla resultante se extrajo con DCM (3 x 100 ml). Las capas orgánicas se combinaron, se secaron con sulfato sódico anhidro, se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (SiO<sub>2</sub>, 50-80 % de acetato de etilo/éter de petróleo) para proporcionar 5-(((*tert*-butildifenilsilil)oxi)metil)-4-etil-2,4-dihidro-3H-1,2,4-triazol-3-ona como un sólido blanco (4,9 g, 61 % de rendimiento). LCMS (ES-API): masa calculada para C<sub>21</sub>H<sub>27</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>Si, 381,2; *m/z* encontrado, 382,2 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 9,98 (s, 1H), 7,61-7,72 (m, 4H), 7,32-7,54 (m, 6H), 4,54 (s, 2H), 3,84 (q, *J* = 7,34 Hz, 2H), 1,33 (t, *J* = 7,34 Hz, 3H), 1,07 (s, 9H) ppm.

Intermedio 3: 5-((benciloxi)metil)-4-etil-2-(7-fluoro-1-oxo-4-(prop-1-en-2-il)-1H-isocromen-6-il)-2,4-dihidro-3H-1,2,4-triazol-3-ona:



5

Etapas A. *terc*-butil 4,5-difluoro-2-yodobenzoato.

Se disolvió ácido 4,5-difluoro-2-yodobenzoico (3 g, 11 mmol) en THF (30 ml), después se añadió dicarbonato de di-*terc*-butilo (4,6 g, 21 mmol) seguido de DMAP (645 mg, 5,3 mmol). La mezcla de reacción se agitó bajo nitrógeno, a 50 °C, durante la  
 10 noche, después, se enfrió hasta la temperatura ambiente. El disolvente se evaporó bajo presión reducida. El residuo se diluyó con EtOAc, después se lavó con salmuera. La capa orgánica se separó, se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía en columna de sílice (elución por gradiente: 0 - 5 % de EtOAc en éter de petróleo) para dar el compuesto del título como un aceite amarillo (2,9 g,  
 15 rendimiento: 79 %). <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,77 (dd, *J* = 10,2, 7,9 Hz, 1 H), 7,63 (dd, *J* = 10,2, 7,9 Hz, 1 H), 1,62 (s, 9 H) ppm; <sup>19</sup>F NMR (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ -131,55 - -131,13 (m, 1 F), -136,97 - -136,65 (m, 1 F) ppm.

Etapas B. 4-(3-((benciloxi)metil)-4-etil-5-oxo-4,5-dihidro- 1H-1- 1,2,4-triazol-1-il)-5- fluoro-2-yodobenzoato de *terc*-butilo.

20 Una mezcla de 4,5-difluoro-2-yodobenzoato de *terc*-butilo (3,2 g, 9,4 mmol), 3-((benciloxi)metil)-4-etil-1H-1,2,4-triazol-5(4H)-ona (Intermedio 1, 2,6 g, 11,2 mmol) y

Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (6,1 g, 18,7 mmol) en DMF anhidro (30 ml) se agitó bajo nitrógeno a 75 °C durante 1 h, después se enfrió hasta temperatura ambiente. La mezcla se filtró a través de una almohadilla de Celite® y la almohadilla se lavó con EtOAc. El filtrado se combinó, se lavó con salmuera y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía en columna de sílice (elución por gradiente: 0 - 40 % de EtOAc en éter de petróleo) para dar el compuesto del título como un sólido amorfo incoloro (5 g, rendimiento: 96 %). ESI-MS: masa calculada para C<sub>23</sub>H<sub>25</sub>FIN<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, 553,1; m/z encontrado, 554,1 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8,16 (d, J = 7,1 Hz, 1 H), 7,62 (d, J = 10,8 Hz, 1 H), 7,29 - 7,45 (m, 5 H), 4,61 (s, 2 H), 4,50 (s, 2 H), 3,84 (q, J = 7,2 Hz, 2 H), 1,63 (s, 9 H), 1,35 (t, J = 7,2 Hz, 3 H) ppm; <sup>19</sup>F NMR (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ -119,09 (dd, J = 10,6, 7,0 Hz, 1 F) ppm.

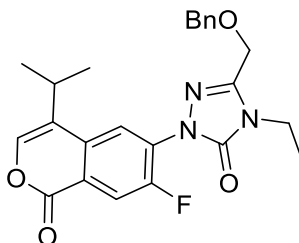
Etapas C. Ácido 4-(3-((benciloxi)metil)-4-etil-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-5-fluoro-2-yodobenzoico.

A una solución de *terc*-butil 4-(3-((benciloxi)metil)-4-etil-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-5-fluoro-2-yodobenzoato (5 g, 9 mmol) en DCM (50 ml) se añadió TFA lentamente (10 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se concentró al vacío. El residuo obtenido se trituro con éter de petróleo a temperatura ambiente durante 30 minutos. La mezcla se filtró y el sólido se enjuagó con éter de petróleo. El precipitado se recolectó y se secó al vacío para dar el compuesto del título como un sólido blanco (4,1 g, rendimiento: 91 %). ESI-MS: masa calculada para C<sub>19</sub>H<sub>17</sub>FIN<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, 497,0; m/z encontrado, 498,0 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8,16 (d, J = 7,3 Hz, 1 H), 7,78 (d, J = 11,0 Hz, 1 H), 7,28 - 7,43 (m, 5 H), 4,60 (s, 2 H), 4,57 (s, 2 H), 3,74 (q, J = 7,2 Hz, 2 H), 1,23 (t, J = 7,2 Hz, 3 H) ppm; <sup>19</sup>F NMR (376 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ -119,91 (s, 1 F) ppm.

Etapa D. 5-((benciloxi)metil)-4-etil-2-(7-fluoro-1-oxo-4-(prop-1-en-2-il)isocromen-6-il)-2,4-dihidro-3H-1,2,4-triazol-3-ona.

A una mezcla de acetato de 3-metilbuta-1,2-dien-1-ilo (Intermedio 12, 280 mg, 2,2 mmol), 4-(3-((benciloxi)metil)-4-etil-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-5-fluoro-2-yodobenzoico (1,1 g, 2,2 mmol) y  $\text{Cy}_2\text{NMe}$  (867 mg, 4,4 mmol) en DMF (7 ml) se añadió Catacxiu A Pd G2 (74,2 mg, 0,11 mmol) bajo nitrógeno. La mezcla de reacción se calentó bajo nitrógeno, a 90 °C, durante la noche. La mezcla se enfrió después, hasta temperatura ambiente, se diluyó con EtOAc y se lavó con salmuera. La capa orgánica se separó, y la capa acuosa se combinó y se extrajo con EtOAc. La capa orgánica combinada se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtró y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía en columna de sílice (elución por gradiente: 0 – 80 % de EtOAc en éter de petróleo) para dar el compuesto como un sólido amarillo (240 mg, rendimiento: 25 %). ESI-MS: masa calculada para  $\text{C}_{24}\text{H}_{22}\text{FN}_3\text{O}_4$ , 435,2;  $m/z$  436,2  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8,15 (d,  $J = 10,5$  Hz, 1 H), 7,86 (d,  $J = 6,8$  Hz, 1 H), 7,30 - 7,45 (m, 5 H), 7,19 (s, 1 H), 5,37 - 5,39 (m, 1 H), 5,18 (s, 1 H), 4,62 (s, 2 H), 4,53 (s, 2 H), 3,87 (q,  $J = 7,1$  Hz, 2 H), 2,11 (s, 3 H), 1,37 (t,  $J = 7,2$  Hz, 3 H) ppm.

Intermedio 4: 5-((benciloxi)metil)-4-etil-2-(7-fluoro-4-isopropil-1-oxo-1H-isocromen-6-il)-2,4-dihidro-3H-1,2,4-triazol-3-ona.



Método IEtapas A. 3-metilbut-2-en-1-il 4,5-difluoro-2-yodobenzoato.

A la mezcla de ácido 4,5-difluoro-2-yodobenzoico (1,4 g, 4,9 mmol) y  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  (4,8 g, 14,8 mmol) en DMF anhidro (20 ml) se añadió 1-bromo-3-metil-2-butenol (1,5 g, 9,9 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 18 h. La mezcla se diluyó con agua, y se extrajo la mezcla con DCM y EtOAc. El extracto orgánico combinado se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtró y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida ( $\text{SiO}_2$ , elución por gradiente: 10 - 20 % de EtOAc en heptano) para dar el producto deseado como un aceite incoloro (1,6 g, rendimiento: 92 %).  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7,80 (dd,  $J = 7,58, 9,54$  Hz, 1H), 7,73 (dd,  $J = 7,83, 10,76$  Hz, 1H), 5,42-5,52 (m, 1H), 4,82 (d,  $J = 7,34$  Hz, 2H), 1,80 (s, 3H), 1,78 (s, 3H) ppm.

Etapas B. 3-metilbut-2-en-1-il 4-(3-((benciloxi)metil)-4-etil-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il-5-fluoro-2-yodobenzoato.

A una mezcla de 3-metilbut-2-en-1-il 4,5-difluoro-2-yodobenzoato (1,6 g, 4,5 mmol), 3-((benciloxi)metil)-4-etil-1H-1,2,4-triazol-5(4H)-ona (Intermedio 1, 2,1 g, 9,1 mmol) en DMF anhidro (25 ml) se añadió  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  (2,9 g, 9,1 mmol). La mezcla de reacción se calentó bajo nitrógeno, a 85 °C, por 1 h, después, se enfrió hasta temperatura ambiente. La mezcla se diluyó con agua y se extrajo la mezcla con DCM y EtOAc. El extracto orgánico combinado se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtró y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida ( $\text{SiO}_2$ , elución por gradiente: 20-50 % de EtOAc en heptano) para dar el compuesto del título como un sólido blanco (2,4 g, rendimiento: 93 %). LCMS (ES-API): masa calc. para  $\text{C}_{24}\text{H}_{25}\text{FIN}_3\text{O}_4$ , 565,1;  $m/z$  encontrado, 566,2  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8,21 (d,  $J = 6,85$  Hz, 1H), 7,73 (d,  $J = 11,25$  Hz, 1H), 7,29-7,44 (m,

5H), 5,41-5,53 (m, 1H), 4,84 (d,  $J = 7,34$  Hz, 2H), 4,60 (s, 2H), 4,50 (s, 2H), 3,84 (q,  $J = 7,22$  Hz, 2H), 1,80 (s, 3H), 1,78 (d,  $J = 0,98$  Hz, 3H), 1,34 (t,  $J = 7,22$  Hz, 3H) ppm.

Etapas C. 5-((benciloxi)metil)-4-etil-2-(7-fluoro-4-isopropil-1-oxo-1H-isocromen-6-il)-2,4-dihidro-3H-1,2,4-triazol-3-ona.

5           A una mezcla de 3-metilbut-2-en-1-il 4-(3-((benciloxi)metil)-4-etil-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-5-fluoro-2-yodobenzoato (4 g, 6,86 mmol, 1 eq) en tolueno (200 ml) se añadió (tBu<sub>3</sub>P)PdG<sub>2</sub> (351 mg, 0,69 mmol, 0,1 eq), N-ciclohexil-N-metil-ciclohexanamina (1,60 ml, 7,54 mmol, 1,1 eq), respectivamente. La mezcla de reacción se desgasificó con nitrógeno tres veces, y después se calentó bajo atmósfera de nitrógeno, a 80 °C, durante 18

10    horas. El análisis de LCMS mostró que permanecía ~18 % del material inicial. La mezcla se enfrió hasta 15 °C, y se añadió N-ciclohexil-N-metil- ciclohexanamina (0,72 ml, 3,43 mmol, 0,5 eq) y tBu<sub>3</sub>PPdG<sub>2</sub> (176 mg, 0,34 mmol, 0,05 eq) adicional. La mezcla de reacción se desgasificó con nitrógeno, y después se calentó bajo atmósfera de nitrógeno, a 80 °C, durante 16 h. La mezcla se concentró a presión reducida, después se diluyó con H<sub>2</sub>O

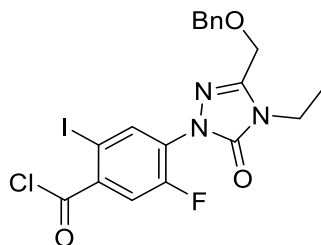
15    (200 ml) y se extrajo con EtOAc (150 mlx3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (100 mlx2), se secaron con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO<sub>2</sub>, éter de petróleo/acetato de etilo = 5/1 a 3/1) para dar el compuesto del título como un aceite amarillo (1,1 g, rendimiento: 35 %). ESI-MS: masa calculada para C<sub>24</sub>H<sub>24</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, 437,2; m/z

20    encontrado, 438,5 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8,16 (d,  $J = 6,6$  Hz, 1H), 7,96 (d,  $J = 6,6$  Hz, 1H), 7,42 -7,34 (m, 5H), 7,13 (s, 1H), 4,63 (s, 2H), 4,54 (s, 2H), 3,88 (dd,  $J = 7,2$ , 14,4 Hz, 2H), 3,13 - 3,06 (m, 1H), 1,38 (t,  $J = 7,2$  Hz, 3H), 1,32 (d,  $J = 6,8$  Hz, 6H) ppm.

## Método II:

A una mezcla de 5-((benciloxi)metil)-4-etil-2-(7-fluoro-1-oxo-4-(prop-1-en-2-il)-1H-isocromen-6-il)-2,4-dihidro-3 H-1,2,4-triazol-3-ona (Intermedio 3, 5,9 g, 13,5 mmol) en THF (100 ml) a temperatura ambiente se añadió un catalizador de Wilkinson [RhCl(PPh<sub>3</sub>)<sub>3</sub>] (3,8 g, 4,1 mmol). La mezcla se desgasificó y se purgó con gas hidrógeno. La mezcla de reacción se agitó en una atmósfera de hidrógeno (15 Psi) a temperatura ambiente durante 12 h. La mezcla se concentró. El residuo se purificó por cromatografía de columna en sílice (elución: 0 - 25 % de EtOAc en éter de petróleo) para dar el compuesto del título como un sólido amarillo (1,5 g, rendimiento: 77 %). ESI-MS: masa calculada para C<sub>24</sub>H<sub>24</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, 437,2; m/z encontrada 438,2 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8,10 (d, *J* = 10,5 Hz, 1 H), 8,01 (d, *J* = 7,0 Hz, 1 H), 7,46 (s, 1 H), 7,26 - 7,42 (m, 5 H), 4,61 (s, 2 H), 4,59 (s, 2 H), 3,77 (q, *J* = 7,3 Hz, 2 H), 3,08 (dt, *J* = 13,4, 6,8 Hz, 1 H), 1,22 - 1,28 (m, 9 H) ppm; <sup>19</sup>F NMR (376 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ -118,29 (br s, 1 F) ppm.

15 Intermedio 5: Cloruro de 4-(3-((benciloxi)metil)-4-etil-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-5-fluoro-2-yodobenzoilo.



EtapA A. *terc*-butil 4,5-difluoro-2-yodobenzoato.

Se disolvió ácido 4,5-difluoro-2-yodobenzoico (3 g, 11 mmol) en THF (30 ml), después se añadió dicarbonato de di-*terc*-butilo (4,6 g, 21 mmol) seguido de DMAP (645 mg, 5,3 mmol). La mezcla de reacción se agitó bajo nitrógeno, a 50 °C, durante la  
 5 noche, después, se enfrió hasta la temperatura ambiente. El disolvente se evaporó bajo presión reducida. El residuo se diluyó con EtOAc, después se lavó con salmuera. La capa orgánica se separó, se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía en columna de sílice (elución por gradiente: 0 - 5 % de EtOAc en éter de petróleo) para dar el compuesto del título como un aceite amarillo (2,9 g,  
 10 rendimiento: 79 %). <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,77 (dd, *J* = 10,2, 7,9 Hz, 1 H), 7,63 (dd, *J* = 10,2, 7,9 Hz, 1 H), 1,62 (s, 9 H) ppm; <sup>19</sup>F NMR (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ -131,55 - -131,13 (m, 1 F), -136,97 - -136,65 (m, 1 F) ppm.

EtapA B. 4-(3-((benciloxi)metil)-4-etil-5-oxo-4,5-dihidro- 1H-1- 1,2,4-triazol-1-il)-5- fluoro-2-yodobenzoato de *terc*-butilo.

Una mezcla de 4,5-difluoro-2-yodobenzoato de *terc*-butilo (3,2 g, 9,4 mmol), 3-((benciloxi)metil)-4-etil-1H-1,2,4-triazol-5(4H)-ona (Intermedio 1, 2,6 g, 11,2 mmol) y Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (6,1 g, 18,7 mmol) en DMF anhidro (30 ml) se agitó bajo nitrógeno a 75 °C durante 1 h, después se enfrió hasta temperatura ambiente. La mezcla se filtró a través de una almohadilla de Celite® y la almohadilla se lavó con EtOAc. El filtrado se combinó,  
 15 se lavó con salmuera y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía en columna de sílice (elución por gradiente: 0 - 40 % de EtOAc en éter de petróleo) para dar el compuesto del título como un sólido amorfo incoloro (5 g, rendimiento: 96 %). ESI-MS: masa calculada para C<sub>23</sub>H<sub>25</sub>FIN<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, 553,1; *m/z* encontrado, 554,1 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8,16 (d, *J* = 7,1 Hz, 1 H), 7,62 (d, *J* = 10,8 Hz, 1 H), 7,29 - 7,45 (m, 5  
 20

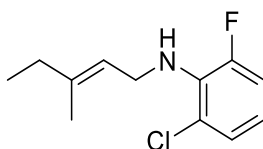
H), 4,61 (s, 2 H), 4,50 (s, 2 H), 3,84 (q,  $J = 7,2$  Hz, 2 H), 1,63 (s, 9 H), 1,35 (t,  $J = 7,2$  Hz, 3 H) ppm;  $^{19}\text{F}$  NMR (376 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  -119,09 (dd,  $J = 10,6, 7,0$  Hz, 1 F) ppm.

Etapa C. Ácido 4-(3-((benciloxi)metil)-4-etil-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-5-fluoro-2-yodobenzoico.

5           A una solución de *terc*-butil 4-(3-((benciloxi)metil)-4-etil-5-oxo-4,5- dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-5-fluoro-2-yodobenzoato (5 g, 9 mmol) en DCM (50 ml) se añadió TFA lentamente (10 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se concentró al vacío. El residuo obtenido se trituró con éter de petróleo a temperatura ambiente durante 30 minutos. La mezcla se filtró y el  
10 sólido se enjuagó con éter de petróleo. El precipitado se recolectó y se secó al vacío para dar el compuesto del título como un sólido blanco (4,1 g, rendimiento: 91 %). ESI-MS: masa calculada para  $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{FIN}_3\text{O}_4$ , 497,0;  $m/z$  encontrado, 498,0  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  8,16 (d,  $J = 7,3$  Hz, 1 H), 7,78 (d,  $J = 11,0$  Hz, 1 H), 7,28 - 7,43 (m, 5 H), 4,60 (s, 2 H), 4,57 (s, 2 H), 3,74 (q,  $J = 7,2$  Hz, 2 H), 1,23 (t,  $J = 7,2$  Hz, 3 H)  
15 ppm;  $^{19}\text{F}$  NMR (376 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  -119,91 (s, 1 F) ppm.

Etapa D. Cloruro de 4-(3-((benciloxi)metil)-4-etil-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-5-fluoro-2-yodobenzoilo.

Una solución de ácido 4-(3-((benciloxi)metil)-4-etil-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1- 1,2,4-triazol-1-il)-5-fluoro-2-yodobenzoico (3,5 g, 7 mmol) en  $\text{SOCl}_2$  (14 ml) se calentó a  
20 reflujo durante 15 minutos. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y se concentró. Al residuo se añadió tolueno anhidro, después la mezcla se evaporó para dar el producto crudo como una goma amarilla (3,6 g), que se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional.

Intermedio 6: 2-cloro-6-fluoro-N-(3-metilpent-2-en-1-il)anilina.5      Etapla A. Etil 3-metilpent-2-enoato.

A una solución de 2-butanona (52 g, 717,6 mmol) y (carbetoximetilen) trifenilfosforano (50 g, 143,5 mmol) en tolueno (65 ml) se añadió ácido benzoico (3,5 g, 28,7 mmol). La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 16 horas. La mezcla se diluyó con éter de petróleo y se filtró a través de una almohadilla corta de gel de sílice. El gel de sílice se lavó

10 con hexano. El filtrado se concentró bajo presión reducida a 0-2 °C. El residuo se purificó por cromatografía de columna en sílice (elución: 0 - 10 % de EtOAc en éter de petróleo) para dar el compuesto del título como una goma incolora (23,3 g, crudo). <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 5,58 - 5,69 (m, 1 H), 4,13 (qd, J = 7,1, 4,9 Hz, 2 H), 2,62 (q, J = 7,5 Hz, 1 H), 2,09 - 2,20 (m, 3 H), 1,86 (d, J = 1,2 Hz, 1 H), 1,24 - 1,28 (m, 3 H), 1,01 - 1,09 (m, 3 H) ppm.

15      Etapla B. 3-metilpent-2-en-1-ol.

A una solución de tolueno (1 M) de DIBAL-H (118 ml, 118 mmol) a -78 °C se añadió una solución de tolueno (40 ml) de etil 3-metilpent-2-enoato (20 g crudo) gota a gota bajo nitrógeno. La mezcla de reacción se agitó a -78 °C durante 2 h. La mezcla se calentó hasta temperatura ambiente y se vertió lentamente en solución acuosa saturada

20 de tartrato de sodio y potasio a 0 °C. La mezcla se diluyó durante 2 h y se filtró a través de una almohadilla corta de Celite®. La almohadilla se lavó con DCM/EtOAc (v/v, 3/1), y el filtrado se extrajo con DCM. La capa orgánica se separó, se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se

filtró y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía de columna en sílice (elución: 0 – 100 % de DCM en éter de petróleo, después 0 – 30 % de EtOAc en DCM) para dar el compuesto del título como un líquido incoloro (7 g, rendimiento de dos etapas: 57 %).  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  5,35 - 5,46 (m, 1 H), 4,11 - 4,21 (m, 2 H),  
 5 2,02 - 2,13 (m, 2 H), 1,67 - 1,76 (m, 3 H), 0,98 - 1,06 (m, 3 H) ppm.

#### Etapas C. 3-metilpent-2-enal

A una solución de 3-metilpent-2-en-1-ol (2 g, 20,0 mmol) en DCM (20 ml) se añadió peryodinano de Dess-Martin (10 g, 24,0 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla se filtró a través de una almohadilla corta  
 10 de Celite®. La almohadilla se lavó con DCM. El filtrado combinado se lavó con solución acuosa saturada de  $\text{NaHCO}_3$ . La capa orgánica se separó, se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtró y se concentró bajo presión reducida a 0 - 2 °C. El crudo se purificó mediante cromatografía en columna en sílice (elución: DCM) para dar el compuesto del título como un líquido incoloro (1,5 g, rendimiento: 77 %).  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  9,91 - 10,04  
 15 (m, 1 H), 5,78 - 5,90 (m, 1 H), 2,58 (q,  $J$  = 7,6 Hz, 1 H), 2,23 (d,  $J$  = 7,3 Hz, 1 H), 2,16 (s, 2 H), 1,96 (d,  $J$  = 1,1 Hz, 1 H), 1,16 (t,  $J$  = 7,6 Hz, 1 H), 1,09 (t,  $J$  = 7,4 Hz, 2 H) ppm.

#### Etapas D. N-(2-cloro-6-fluorofenil)-3-metilbut-2-en-1-imina.

A una solución de 2-cloro-6-fluoroanilina (1,2 g, 8,2 mmol) y 3-metilpent-2-enal (0,97 g, 9,9 mmol) en DCM (18 ml) bajo nitrógeno a 0 °C se añadió trietilamina (4,6 ml,  
 20 33 mmol), seguido por la adición de una solución DCM (1 M) de  $\text{TiCl}_4$  (5 ml, 5 mmol) gota a gota. La mezcla resultante se agitó a 0 °C durante 1 h, después se calentó hasta la temperatura ambiente y se agitó durante 4 h. La mezcla se vertió en una solución acuosa de  $\text{NH}_4\text{Cl}$ . La mezcla se volvió turbia y se filtró a través de una almohadilla de Celite®. La almohadilla se lavó con EtOAc. La mezcla se diluyó con DCM y agua. La

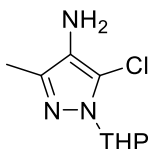
capa orgánica se separó, y la capa acuosa se extrajo con DCM. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua, se secaron con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron y se concentraron. El producto residual se purificó mediante cromatografía en columna en gel de sílice (elución por gradiente: 0 - 5 % de DCM en éter de petróleo) para dar el  
 5 compuesto como un aceite amarillo (1,3 g, rendimiento: 70 %).

Etapas E. 2-cloro-6-fluoro-N-(3-metilpent-2-en-1-il)anilina.

A una solución de N-(2-cloro-6-fluorofenil)-3-metilpent-2-en-1-imina (1,3 g, 5,76 mmol) en MeOH (20 ml) se añadió NaBH<sub>4</sub> (218 mg, 5,8 mmol), y después de un intervalo de 1 h, se añadió otro lote de NaBH<sub>4</sub> (218 mg, 5,8 mmol). Se añadió un total de  
 10 NaBH<sub>4</sub> (1,1 g, 29 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se concentró, y después se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se separó, se lavó con salmuera, se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en columna de gel de sílice (eluyente: 0 - 5 % de EtOAc en éter de petróleo) para dar el compuesto como un aceite  
 15 amarillo (430 mg, rendimiento: 33 %). <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 6,95 - 7,02 (m, 1 H), 6,84 (ddd, J = 12,2, 8,3, 1,3 Hz, 1 H), 6,52 - 6,63 (m, 1 H), 5,17 - 5,28 (m, 1 H), 3,85 (d, J = 5,6 Hz, 2 H), 3,73 (s, 1 H), 1,91 - 2,07 (m, 2 H), 1,58 - 1,68 (m, 3 H), 0,89 - 0,96 (m, 3 H).

Intermedio 7: 5-cloro-3-metil-1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazol-4-amina.

20



Etapas A. 5-cloro-3-metil-4-nitro-1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazol.

A una solución de 3-metil-4-nitropirazol (2 g, 15,7 mmol) en EtOAc (20 ml) se añadió DHP (2 g, 23,6 mmol) y TsOH.H<sub>2</sub>O (150 mg, 0,79 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se añadió Et<sub>3</sub>N (0,4 ml) y la  
 5 mezcla se lavó con salmuera. Después la capa orgánica se separó, se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró. El residuo se disolvió en THF (45 ml) y la temperatura se redujo hasta -78 °C. Una solución de THF (1 M) de LiHMDS (10,6 ml, 13,8 mmol) se añadió a la mezcla bajo nitrógeno. Después de 45 minutos a -78 °C, la solución de hexacloroetano (8,9 g, 37,8 mmol) en THF (20 ml) se añadió gota a gota. La mezcla de reacción se calentó  
 10 a temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La mezcla se vertió en una solución de NH<sub>4</sub>Cl acuosa saturada y se extrajo con EtOAc. La fase orgánica se separó, se lavó con salmuera, se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía en columna de sílice (elución por gradiente: 0 - 40 % de EtOAc en éter de petróleo) para dar el compuesto del título como un sólido blanco (1,8 g, rendimiento: 58 %).  
 15 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 5,52 (dd, J = 10,0, 2,7 Hz, 1 H), 4,07 - 4,15 (m, 1 H), 3,70 (td, J = 11,3, 2,8 Hz, 1 H), 2,57 (s, 3 H), 2,37 - 2,47 (m, 1 H), 2,11 - 2,19 (m, 1 H), 1,86 - 1,90 (m, 1 H), 1,72 - 1,75 (m, 1 H), 1,64 (d, J = 2,0 Hz, 1 H), 1,53 (d, J = 6,6 Hz, 1 H) ppm.

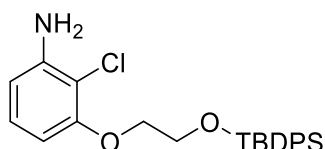
Etapas B. 5-cloro-3-metil-1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazol-4-amina.

A una solución de 5-cloro-3-metoxi-4-nitro-1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-1H-pirazol  
 20 (100 mg, 0,4 mmol) en MeOH/THF/H<sub>2</sub>O (v/v/v, 1/1/1, 3 ml) se añadió hierro en polvo (114 mg, 2,0 mmol) y NH<sub>4</sub>Cl (109 mg, 2,0 mmol). La mezcla se agitó a 70 °C durante 1,5 h. La mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente y se filtró a través de una almohadilla de Celite®. La almohadilla se lavó con EtOAc. El filtrado combinado se lavó con solución acuosa saturada de NaHCO<sub>3</sub>. La capa orgánica se separó, y la capa

acuosa se extrajo con EtOAc. El extracto orgánico combinado se lavó con salmuera, se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, se filtró y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía en columna de sílice (elución por gradiente: 0 - 50 % de EtOAc en éter de petróleo) para dar el compuesto como un aceite amarillo (70 mg, rendimiento: 79 %).

5 MS (ESI): masa calculada para  $\text{C}_9\text{H}_{14}\text{ClN}_3\text{O}$ , 215,1; m/z encontrado, 216,1  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

Intermedio 8: 3-(2-((*tert*-butildifenilsilil)oxi)etoxi)-2-cloroanilina.



10

EtapA A. *tert*-butil(2-(2-cloro-3-nitrofenoxi)etoxi)difenilsilano.

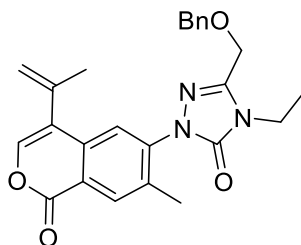
A una mezcla de 2-cloro-3-nitrofenol (200 mg, 1,2 mmol), 2-((*tert*-butildifenilsilil)oxi)etan-1-ol (554 mg, 1,8 mmol) y  $\text{PPh}_3$  (453 mg, 1,7 mmol) en THF (10 ml) se añadió DEAD (281 mg, 161 mmol) a 0 °C bajo nitrógeno. La mezcla se  
 15 calentó a temperatura ambiente y se agitó a temperatura ambiente durante 12 h. Se añadió solución acuosa saturada de  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , y la mezcla se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se separó, se lavó con salmuera, se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, se filtró y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía en columna de sílice (elución por gradiente: 0 - 10 % de EtOAc en éter de petróleo) para dar el compuesto como un aceite  
 20 amarillo (240 mg, rendimiento: 46 %).  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7,72 (dd,  $J = 7,8$ , 1,5 Hz, 4 H), 7,35 - 7,49 (m, 7 H), 7,30 (t,  $J = 8,2$  Hz, 1 H), 7,12 (dd,  $J = 8,3$ , 1,2 Hz, 1 H), 4,20 - 4,25 (m, 2 H), 4,06 (t,  $J = 4,9$  Hz, 2 H), 1,06 (s, 9 H) ppm

Etapas B. 3-(2-((*tert*-butildifenilsilil)oxi)etoxi)-2-cloroanilina.

A una mezcla de *tert*-butil(2-(2-cloro-3-nitrofenoxi)etoxi)difenilsilano (220 mg, 0,5 mmol), NH<sub>4</sub>Cl (258 mg, 4,8 mmol) en THF (3 ml), MeOH (3 ml) y H<sub>2</sub>O (3 ml) se añadió hierro en polvo (269 mg, 4,8 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 70 °C durante 2 h.

- 5 La mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente, se diluyó con EtOAc, y se filtró a través de una almohadilla de Celite®. El Celite® se lavó con EtOAc. El filtrado combinado se lavó con salmuera, se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía en columna de sílice (elución por gradiente: 0 - 30 % de EtOAc en éter de petróleo) para dar el compuesto del título como un sólido amarillo (192 mg, 10 rendimiento: 92 %). ESI-MS: masa calculada para C<sub>24</sub>H<sub>28</sub>ClNO<sub>2</sub>, 425,2; m/z encontrada, 426,1[M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,75 (dd, *J* = 7,9, 1,6 Hz, 4 H), 7,35 - 7,48 (m, 6 H), 6,97 (t, *J* = 8,1 Hz, 1 H), 6,42 (dd, *J* = 8,2, 1,1 Hz, 1 H), 6,33 (dd, *J* = 8,2, 1,1 Hz, 1 H), 4,13 - 4,17 (m, 2 H), 4,07 - 4,13 (m, 2 H), 4,01 - 4,06 (m, 2 H), 1,06 (s, 9 H) ppm.

- 15 Intermedio 9: 5-((benciloxi)metil)-4-etil-2-(7-fluoro-1-oxo-4-(prop-1-en-2-il)isocromen-6-il)-2,4-dihidro-3H-1,2,4-triazol-3-ona.



EtapA A. 2-bromo-4-fluoro-5-metilbenzoato de terc-butilo.

A una solución de ácido 2-bromo-4-fluoro-5-metilbenzoico (1 g, 4,3 mmol) en THF (10 ml) se añadió (Boc)<sub>2</sub> O (1,9 g, 8,6 mmol), seguido por la adición de DMAP (262 mg, 2,1 mmol). La mezcla de reacción se tornó naranja y se agitó bajo nitrógeno, a 50 °C, durante la noche. La mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente, se diluyó con EtOAc y después se lavó con salmuera. La capa orgánica se separó, secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía de columna en sílice (elución: 0 - 3 % de EtOAc en éter de petróleo) para dar el compuesto como un aceite amarillo (900 mg, rendimiento: 72 %). <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,57 (d, J = 8,1 Hz, 1 H), 7,24 (d, J = 4,6 Hz, 1 H), 2,22 (d, J = 1,5 Hz, 3 H), 1,58 (s, 9 H) ppm.

EtapA B. 4-(3-((benciloxi)metil)-4-etil-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-2-bromo-5-metilbenzoato de terc-butilo.

A una mezcla de 2-bromo-4-fluoro-5-metilbenzoato de terc-butilo. (750 mg, 2,6 mmol), 5-((benciloxi)metil)-4-etil-2,4-dihidro-3 H-1,2,4-triazol-3-ona (800 mg, 3,4 mmol) y Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1,7 g, 5,2 mmol) en DMF (8 ml) se agitó a 90 °C durante 16 h. La reacción se inactivó mediante la adición de solución de NH<sub>4</sub>Cl saturada acuosa. La mezcla se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se separó, se lavó con salmuera, se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (SiO<sub>2</sub>, eluyente; 0 - 22 % de EtOAc en éter de petróleo) para dar el compuesto del título como una goma incolora (1 g, rendimiento: 71 %). ESI-MS: masa calculada para C<sub>24</sub>H<sub>28</sub>BrN<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, 501,1; m/z encontrado, 502,1 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,64 (d, J = 6,1 Hz, 2 H), 7,33 - 7,43 (m, 5 H), 4,61 (s, 2 H), 4,50 (s, 2 H), 3,85 (q, J = 7,3 Hz, 2 H), 2,31 (s, 3 H), 1,62 (s, 9 H), 1,36 (t, J = 7,2 Hz, 3 H) ppm.

Etapa C. Ácido 4-(3-((benciloxi)metil)-4-etil-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-2-bromo-5-metil benzoico.

A una mezcla de 4-(3-((benciloxi)metil)-4-etil-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-2-bromo-5-metilbenzoato de *terc*-butilo (500 mg, 0,90 mmol) en DCM (5 ml) se añadió  
 5 TFA lentamente (1 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 12 h. La mezcla se concentró. El residuo se disolvió con DCM, y se añadió éter de petróleo lentamente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente por 30 min. La mezcla se filtró, y el precipitado se enjuagó con éter de petróleo. El precipitado se recolectó y se secó *in vacuo* para dar el compuesto del título como un sólido blanco (360 mg, rendimiento: 86 %). ESI-MS: masa  
 10 calculada para  $C_{20}H_{20}BrN_3O_4$ , 445,1; *m/z* encontrado, 446,0  $[M+H]^+$ .  $^1H$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7,77 (s, 1 H), 7,70 (s, 1 H), 7,29 - 7,41 (m, 5 H), 4,59 (s, 2 H), 4,56 (s, 2 H), 3,74 (q,  $J = 7,0$  Hz, 2 H), 2,24 (s, 3 H), 1,23 (t,  $J = 7,2$  Hz, 3 H) ppm.

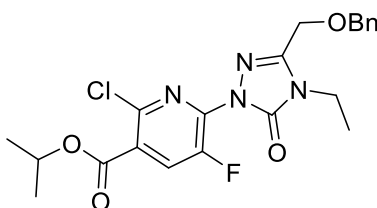
Etapa D. 5-((benciloxi)metil)-4-etil-2-(7-metil-1-oxo-4-(prop-1-en-2-il)-1H-isocromen-6-il)-2,4-dihidro-3H-1,2,4-triazol-3-ona.

15 A una mezcla de ácido 4-(3-((benciloxi)metil)-4-etil-5-oxo-4,5-dihidro-1 H-1,2,4-triazol-1-il)-2-bromo-5-metilbenzoico (560 mg, 1,26 mmol), acetato de 3-metilbuta-1,2-dien-1-ilo (Intermedio 12, 1,58 g, 12,5 mmol), AcOK (369 mg, 3,76 mmol) y TBAB (809 mg, 2,51 mmol) en DMF (3,9 ml) bajo nitrógeno se añadió  $Pd(OAc)_2$  (141 mg, 0,63 mmol). La mezcla de reacción se calentó bajo nitrógeno, a 90 °C, durante la noche. La mezcla se  
 20 enfrió hasta la temperatura ambiente, se diluyó con EtOAc, y se lavó con salmuera. La capa orgánica se separó, y la capa acuosa se extrajo con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se combinaron, se secaron con  $Na_2SO_4$ , se filtraron, y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía en columna de sílice (elución por gradiente: 0 - 70 % de EtOAc en éter de petróleo) para dar el compuesto del título como un sólido amarillo

(410 mg, rendimiento: 73 %). ESI-MS: masa calculada para  $C_{25}H_{25}N_3O_4$ , 431,2; m/z encontrada, 432,1  $[M+H]^+$ .  $^1H$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  8,28 (s, 1 H), 7,59 (s, 1 H), 7,31 - 7,46 (m, 5 H), 7,17 (s, 1 H), 5,30 - 5,37 (m, 1 H), 5,15 (s, 1 H), 4,63 (s, 2 H), 4,52 (s, 2 H), 3,87 (q,  $J = 7,1$  Hz, 2 H), 2,46 (s, 3 H), 2,10 (s, 3 H), 1,38 (t,  $J = 7,2$  Hz, 3 H) ppm.

5

Intermedio 10: 6-(3-((benciloxi)metil)-4-etil-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-2-cloro-5-fluoronicotinato de isopropilo.



10

Etapas A. Cloruro de 2,6-dicloro-5-fluoronicotinoil.

A una solución de ácido 2,6-dicloro-5-fluoronicotínico (20 g, 95 mmol) en THF (200 ml) se añadió  $(COCl)_2$  (12,7 g, 10,0 mmol) y DMF (69,6 mg, 0,952 mmol) a 0 °C gota a gota. La mezcla se agitó a 0 °C durante 30 minutos, después, se calentó a 25 °C y se agitó durante 1 hora. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para producir el producto deseado (21,7 g, crudo) como un aceite incoloro, que se usó sin purificación adicional.

Etapas B. 2,6-dicloro-5-fluoronicotinato de isopropilo.

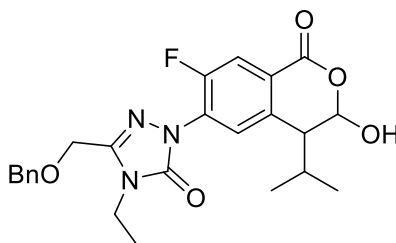
A una mezcla de propan-2-ol (8,56 g, 142 mmol, 10,9 ml) y piridina (9,02 g, 114 mmol) en THF (200 ml) se añadió una solución de cloruro de 2,6-dicloro-5-fluoronicotinoilo (21,7 g, 96,0 mmol) en THF (50 ml) a 0 °C. La mezcla se agitó a 120 °C

durante 1 hora. La mezcla se vertió en agua (300 ml). La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (30 ml). La fase orgánica combinada se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (SiO<sub>2</sub>, éter de petróleo/acetato de etilo = 1/1 a 10:1) para proporcionar el compuesto del título (21 g, 86,82 % de rendimiento). MS (ESI): masa calculada para C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>Cl<sub>2</sub>FNO<sub>2</sub>, 250,1; m/z encontrado, 252,0 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,97 - 7,95 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 5,32 - 5,25 (m, 1H), 1,58 - 1,39 (m, 6H) ppm.

Etapas C. 6-(3-((benciloxi)metil)-4-etil-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-2-cloro-5-fluoronicotinato de isopropilo.

A una mezcla de 2,6-dicloro-5-fluoronicotinato de isopropilo (4 g, 15,87 mmol) en DMSO (40 ml) se añadió 3-((benciloxi)metil)-4-etil-1H-1,2,4-triazol-5(4H)-ona (3,89 g, 16,66 mmol) y K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (3,29 g, 23,80 mmol). La mezcla se agitó a 80 °C durante 3 h. La LCMS mostró que el material de partida se consumió y la masa deseada fue detectada. La mezcla se diluyó con H<sub>2</sub>O (30 ml) y se extrajo con EtOAc (50 ml \* x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (100 ml), se secaron con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (SiO<sub>2</sub>, éter de petróleo/acetato de etilo = 1/0 a 1:1) para proporcionar el compuesto del título (5,7 g, 79,86 % de rendimiento). MS (ESI): masa calculada para C<sub>21</sub>H<sub>22</sub>ClFN<sub>4</sub>O<sub>4</sub>, 448,1; m/z encontrada, 449,2 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8,10 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 7,43 - 7,31 (m, 5H), 5,30 (td, J = 6,3, 12,5 Hz, 1H), 4,61 (s, 2H), 4,54 (s, 2H), 3,85 (q, J = 7,2 Hz, 2H), 1,41 (d, J = 6,2 Hz, 6H), 1,37 - 1,31 (m, 3H) ppm.

Intermedio 11: 5-((benciloxi)metil)-4-etil-2-(7-fluoro-3-hidroxi-4-isopropil-1-oxoisocromen-6-il)-2,4-dihidro-3H-1,2,4-triazol-3-ona.



5

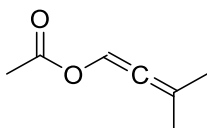
Etapas A. 4-(3-((benciloxi)metil)-4-etil-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-2-bromo-5-fluorobenzoato de metilo.

A un matraz cargado con 2-bromo-4,5-difluorobenzoato de metilo (100,0 g, 398 mmol), 5-((benciloxi)metil)-4-etil-2,4-dihidro-3 H-1,2,4-triazol-3-ona (Intermedio 1, 113,5 g, 508 mmol) y  $K_2CO_3$  (100,0 g, 724 mmol) se añadió DMF anhidra (1000 ml). La mezcla de reacción se calentó bajo nitrógeno a 50 °C durante 16 horas y, después, se añadió 5-((benciloxi)metil)-4-etil-2,4-dihidro-3 H-1,2,4-triazol-3-ona adicional (11 g, 51 mmol). La mezcla de reacción continuó agitándose a 50 °C. La mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente y se agitó durante 10 minutos. Se añadió agua (1000 ml) gota a gota, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. El precipitado se recolectó por filtración y se secó para dar el producto crudo (190 g). El producto se agitó en DMF (500 ml) por 30 minutos, después se añadió agua (500 ml). La mezcla se agitó durante 2 horas. El precipitado se recolectó por filtración y se secó para dar el compuesto del título (180 g, rendimiento: 90 %).  $^1H$  NMR (300 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  7,95 (d,  $J$  = 6,7 Hz, 1H), 7,73 (d,  $J$  = 10,7 Hz, 1H), 7,44–7,27 (m, 5 H), 4,60 (s, 2 H), 4,50 (s, 2 H), 3,95 (s, 3H), 3,84 (q,  $J$  = 7,2 Hz, 2 H), 1,34 (t,  $J$  = 7,2 Hz, 3 H) ppm.

Etapla B. 5-((benciloxi)metil)-4-etil-2-(7-fluoro-3-hidroxi-4-isopropil-1-oxoisocromen-6-il)-2,4-dihidro-3H-1,2,4-triazol-3-ona.

A una mezcla de metil 4-(3-((benciloxi)metil)-4-etil-5-oxo-4,5-dihidro-1 H-1,2,4-triazol-1-il)-2-bromo-5-fluorobenzoato (30 g, 65,9 mmol), Xantphos (4,02 g, 6,6 mmol),  
 5 [Pd(alil)Cl]<sub>2</sub> (1,38 g, 3,77 mmol), Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (42,6 g, 130 mmol) en dimetilacetamida (300 ml) se añadió lentamente 3-metilbutanal (41,4 ml, 386 mmol). La mezcla de reacción se calentó bajo nitrógeno a 80 °C durante 22 horas. La mezcla se filtró y se apagó con solución acuosa de NH<sub>4</sub>Cl hasta que el “pH” cambió a 7-8. La mezcla se extrajo con acetato de etilo (2000 ml x 2). El extracto orgánico combinado se concentró.  
 10 El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (SiO<sub>2</sub>, elución por gradiente: 1-33 % de acetato de etilo en éter de petróleo) para dar el compuesto del título como un aceite (61,7 g, rendimiento: 56 %). <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,93 (d, J = 10,4 Hz, 1H), 7,55 (d, J = 6,7 Hz, 1H), 7,44–7,28 (m, 5H), 5,92 (s, 1H), 4,61 (s, 2H), 4,51 (s, 2H), 4,37 (br s, 1H), 3,85 (q, J = 7,2 Hz, 2H), 2,80 (d, J = 7,1 Hz, 1H), 1,92 (spt, J = 6,8 Hz,  
 15 1H), 1,35 (t, J = 7,2 Hz, 3H), 1,05 (d, J = 6,8 Hz, 3H), 0,93 (d, J = 6,8 Hz, 3H) ppm.

Intermedio 12: Acetato de 3-metilbuta-1,2-dien-1-ilo.



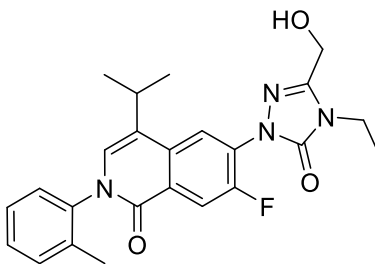
Etapa A. Acetato de 2-metilbut-3-in-2-ilo.

A una mezcla de  $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$  (796 mg, 3,6 mmol) en anhídrido acético (38 g, 371 mmol) a 0 °C se añadió 2-metil-3-buten-2-ol (30 g, 357 mmol) gota a gota. La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 10 minutos, después se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La mezcla de reacción se diluyó con DCM, después, después se lavó con solución acuosa saturada de  $\text{NaHCO}_3$  y solución acuosa saturada de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . La capa orgánica se separó, secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtró y se concentró a 0 °C. El residuo se purificó por cromatografía de columna en sílice (elución: DCM) para dar el compuesto del título como un aceite amarillo pálido (35,8 g, rendimiento: 80 %).  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  2,54 (s, 1 H), 2,03 (s, 3 H), 1,67 (s, 6 H) ppm.

Etapa B. Acetato de 3-metilbuta-1,2-dien-1-ilo.

A una solución de acetato de 2-metilbut-3-in-2-ilo (2,5 g, 20 mmol) en DCM (20 ml) se añadió  $\text{AgBF}_4$  (117 mg, 0,6 mmol) bajo nitrógeno. La solución incolora resultante se agitó bajo nitrógeno a 35 °C durante 2 horas hasta que la mezcla se convirtió en una solución negra. La mezcla se lavó con amoníaco acuoso (10 %). La capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo con DCM. La capa orgánica combinada se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtró y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía en columna de sílice (elución por gradiente: 0 - 3 % de EtOAc en éter de petróleo) para dar el compuesto como un aceite amarillo (650 mg, rendimiento: 26 %).  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7,20 (dt,  $J = 4,1, 2,0$  Hz, 1 H), 2,11 (s, 3 H), 1,81 (d,  $J = 2,0$  Hz, 6 H) ppm.

Ejemplo 22 de PCT/IB 2020/053601 (que se publicó como WO2020/212897 el 22 de octubre de 2020) describe 6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropil-2-(o-tolil)isoquinolin-1(2H)-ona (Compuesto 22).



5

Etapa A, 6-(3-((benciloxi)metil)-4-etil-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4- isopropil-2-(o-tolil)isoquinolin-1(2H)-ona.

A una mezcla de 5-((benciloxi)metil)-4-etil-2-(7-fluoro-3-hidroxi-4-isopropil-1-oxisocromen-6-il)-2,4-dihidro-3 H-1,2,4-triazol-3-ona (Intermedio 11, 56 g, 123 mmol) en AcOH (160 ml) se añadió o-toluidina (14,8 g, 138 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 80 °C durante 16 horas. La mezcla se concentró y, después, el “pH” se ajustó a 7-8 con solución acuosa de NaHCO<sub>3</sub>. La mezcla se extrajo con acetato de etilo (160 ml x 2). El extracto orgánico combinado se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (SiO<sub>2</sub>, acetato de etilo de 0-20 % en DCM) para proporcionar el compuesto del título como un aceite (32,5 g, rendimiento: 50 %). MS (ESI): masa calculada para C<sub>31</sub>H<sub>31</sub>FN<sub>4</sub>O<sub>3</sub>, 526,2; m/z encontrado, 527,4 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8,33 (d, J = 10,9 Hz, 1H), 8,07 (d, J = 6,8 Hz, 1H), 7,44–7,27 (m, 9H), 6,84 (s, 1H), 4,64 (s, 2H), 4,55 (s, 2H), 3,89 (q, J = 7,2 Hz, 2H), 3,23 (spt, J = 6,8 Hz, 1H), 2,16 (s, 3H), 1,39 (t, J = 7,2 Hz, 3H), 1,31 (dd, J = 6,8, 2,1 Hz, 6H) ppm.

Etapa B. 6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropil-2-(o-tolil)isoquinolin-1(2H)-ona.

A una solución agitada de 6-(3-((benciloxi)metil)-4-etil-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropil-2-(o-tolil)isoquinolin- 1(2H)-ona (26,5 g, 50,3 mmol) en DCM (230 ml) a -78 °C se añadió una solución DCM (1 M) de BCl<sub>3</sub> (290 ml, 290 ml) bajo nitrógeno. La mezcla de reacción se agitó a 15 °C por 0,5 horas. La reacción se apagó por MeOH (100 ml) a -78 °C hasta -20 °C. La mezcla se dividió entre agua y DCM. La capa orgánica se separó, y la capa acuosa se extrajo con DCM (110 ml x 2). El extracto orgánico combinado se lavó con salmuera (30 ml x 2), se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró para dar un producto crudo (27,5 g). El producto se trituró con metiletilcetona (82 ml) y heptano (290 ml) para dar un producto puro (17,5 g), que se recristalizó en etanol y agua para dar el compuesto del título como un sólido blanco (16 g, rendimiento: 73 %). MS (ESI): masa calculada para C<sub>24</sub>H<sub>25</sub>FN<sub>4</sub>O<sub>3</sub>, 436,2; m/z encontrado, 437,2 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8,33 (d, J = 11,2, 1 H), 8,08 (d, J = 6,8, 1 H), 7,39-7,33 (m, 3 H), 7,28 (s, 1 H), 6,85 (s, 1 H), 4,69 (br s, 2 H), 3,94 (q, J = 7,11 Hz, 2 H), 3,27 (td, J = 13,66, 6,82 Hz, 1 H), 2,32 (br s, 1 H), 2,17 (s, 3 H), 1,45 (t, J = 7,11 Hz, 3 H), 1,32 (dd, J = 6,82, 1,83 Hz, 6 H) ppm.

Se observa que los compuestos de Fórmula (Z) descritos en la presente descripción se describen en PCT/IB2020/053601 (que se publicó como WO2020/212897 el 22 de octubre de 2020), que se incorpora en la presente descripción como referencia, en su totalidad para todos los fines.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende un inhibidor de la menina-MLL de la Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es un agente hipometilante, un inhibidor de citidina deaminasa, un agente intercalante del ADN, un

análogo de pirimidina, un análogo de purina, un inhibidor de quinasa, un inhibidor de CD20, un inhibidor de IDH, un agente inmunomodulador o un inhibidor de DHODH.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende un inhibidor de la menina-MLL de la Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico, en donde al menos un otro agente terapéutico es un agente hipometilante.

De acuerdo con las modalidades, el agente hipometilante es azacitidina, decitabina o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables de estos.

De acuerdo con modalidades particulares, el agente hipometilante es azacitidina, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende un inhibidor de la menina-MLL de la Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es azacitidina, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A** o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es azacitidina, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A1**, y al menos un otro agente terapéutico es azacitidina, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A2**, y al menos un otro agente terapéutico es azacitidina, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A3**, y al menos un otro agente terapéutico es azacitidina, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este.

5 En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-a** o un solvato de este, y al menos un otro agente terapéutico es azacitidina, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-b** o un hidrato de este, y al menos un otro agente terapéutico es azacitidina, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este.

10 En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4**, y al menos un otro agente terapéutico es azacitidina, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende un inhibidor de la menina-MLL de la Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es azacitidina, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A** o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este, y azacitidina, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este.

20 En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A1**, y azacitidina, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A2**, y azacitidina, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A3**, y azacitidina, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-a** o un solvato de este, y azacitidina, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-b** o un hidrato de este, y azacitidina, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4**, y azacitidina, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende un inhibidor de la menina-MLL de la Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es decitabina, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A** o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es decitabina, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A1**, y al menos un otro agente terapéutico es decitabina, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A2**, y al menos un otro agente terapéutico es decitabina, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A3**, y al menos un otro agente terapéutico es decitabina, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este.

5 En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-a** o un solvato de este, y al menos un otro agente terapéutico es decitabina, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-b** o un hidrato de este, y al menos un otro agente terapéutico es decitabina, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este.

10 En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4**, y al menos un otro agente terapéutico es decitabina, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende un inhibidor de la menina-MLL de la Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente  
15 aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es un agente intercalante del ADN.

De acuerdo con las modalidades, el agente intercalante de ADN es una antraciclina.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende un inhibidor de la menina-MLL de la Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es una antraciclina.

20 En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A** o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es una antraciclina.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A1**, y al menos un otro agente terapéutico es una antraciclina.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A2**, y al menos un otro agente terapéutico es una antraciclina.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A3**, y al menos un otro agente terapéutico es una antraciclina.

5 En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-a** o un solvato de este, y al menos un otro agente terapéutico es una antraciclina.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-b** o un hidrato de este, y al menos un otro agente  
10 terapéutico es una antraciclina.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4**, y al menos un otro agente terapéutico es una antraciclina.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende un inhibidor de la menina-MLL de la Fórmula (I), o una sal o un solvato  
15 farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico, en donde al menos un otro agente terapéutico es un análogo de pirimidina.

De acuerdo con las modalidades, el análogo de pirimidina es citarabina.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende un inhibidor de la menina-MLL de la Fórmula (I), o una sal o un solvato  
20 farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es citarabina.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A** o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es citarabina.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A1**, y al menos un otro agente terapéutico es citarabina.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A2**, y al menos un otro agente terapéutico es citarabina.

5        En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A3**, y al menos un otro agente terapéutico es citarabina.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-a** o un solvato de este, y al menos un otro agente terapéutico es citarabina.

10       En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-b** o un hidrato de este, y al menos un otro agente terapéutico es citarabina.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4**, y al menos un otro agente terapéutico es citarabina.

15       En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende un inhibidor de la menina-MLL de la Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico, en donde al menos un otro agente terapéutico es un análogo de purina.

De acuerdo con las modalidades, el análogo de purina es fludarabina.

20       En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende un inhibidor de la menina-MLL de la Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es fludarabina.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A** o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es fludarabina.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A1**, y al menos un otro agente terapéutico es fludarabina.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A2**, y al menos un otro agente terapéutico es fludarabina.

- 5        En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A3**, y al menos un otro agente terapéutico es fludarabina.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-a** o un solvato de este, y al menos un otro agente terapéutico es fludarabina.

- 10       En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-b** o un hidrato de este, y al menos un otro agente terapéutico es fludarabina.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4**, y al menos un otro agente terapéutico es fludarabina.

- 15       En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende un inhibidor de la menina-MLL de la Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico, en donde al menos un otro agente terapéutico es un inhibidor de IDH.

- 20       En algunas modalidades, el inhibidor de IDH es un inhibidor de isocitrato deshidrogenasa-1 (p. ej., ivosidenib).

De acuerdo con las modalidades, el inhibidor de IDH es ivosidenib.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende un inhibidor de la menina-MLL de la Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es ivosidenib.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A** o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es ivosidenib.

5 En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A1**, y al menos un otro agente terapéutico es ivosidenib.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A2**, y al menos un otro agente terapéutico es ivosidenib.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A3**, y al menos un otro agente terapéutico es ivosidenib.

10 En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-a** o un solvato de este, y al menos un otro agente terapéutico es ivosidenib.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-b** o un hidrato de este, y al menos un otro agente terapéutico es ivosidenib.

15 En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4**, y al menos un otro agente terapéutico es ivosidenib.

En algunas modalidades, el IDH es un inhibidor de isocitrato deshidrogenasa-2 (p ej., enasidenib).

De acuerdo con las modalidades, el inhibidor de IDH es enasidenib.

20 En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende un inhibidor de la menina-MLL de la Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es enasidenib.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A** o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es enasidenib.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A1**, y al menos un otro agente terapéutico es enasidenib.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A2**, y al menos un otro agente terapéutico es enasidenib.

5        En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A3**, y al menos un otro agente terapéutico es enasidenib.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-a** o un solvato de este, y al menos un otro agente terapéutico es enasidenib.

10       En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-b** o un hidrato de este, y al menos un otro agente terapéutico es enasidenib.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4**, y al menos un otro agente terapéutico es enasidenib.

15       En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende un inhibidor de la menina-MLL de la Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico, en donde al menos un otro agente terapéutico es un agente inmunomodulador.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende  
20    un inhibidor de la menina-MLL de la Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico, en donde al menos un otro agente terapéutico es un agente inmunomodulador que es un inhibidor de PD-1.

De acuerdo con las modalidades, el agente inmunomodulador es nivolumab, atezolizumab, pembrolizumab, talidomida, lenalidomida, pomalidomida, Bacillus Calmette-Guérin (BCG) o levamisol.

5 En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende un inhibidor de la menina-MLL de la Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es nivolumab.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A** o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es nivolumab.

10 En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A1**, y al menos un otro agente terapéutico es nivolumab.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A2**, y al menos un otro agente terapéutico es nivolumab.

15 En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A3**, y al menos un otro agente terapéutico es nivolumab.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-a** o un solvato de este, y al menos un otro agente terapéutico es nivolumab.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-b** o un hidrato de este, y al menos un otro agente terapéutico es nivolumab.

20 En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4**, y al menos un otro agente terapéutico es nivolumab.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende un inhibidor de la menina-MLL de la Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es atezolizumab.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A** o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es atezolizumab.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que  
5 comprende el Compuesto **A1**, y al menos un otro agente terapéutico es atezolizumab.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A2**, y al menos un otro agente terapéutico es atezolizumab.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A3**, y al menos un otro agente terapéutico es atezolizumab.

10 En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-a** o un solvato de este, y al menos un otro agente terapéutico es atezolizumab.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-b** o un hidrato de este, y al menos un otro agente  
15 terapéutico es atezolizumab.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4**, y al menos un otro agente terapéutico es atezolizumab.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende un inhibidor de la menina-MLL de la Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente  
20 aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es pembrolizumab.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A** o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es pembrolizumab.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A1**, y al menos un otro agente terapéutico es pembrolizumab.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A2**, y al menos un otro agente terapéutico es pembrolizumab.

5 En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A3**, y al menos un otro agente terapéutico es pembrolizumab.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-a** o un solvato de este, y al menos un otro agente terapéutico es pembrolizumab.

10 En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-b** o un hidrato de este, y al menos un otro agente terapéutico es pembrolizumab.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4**, y al menos un otro agente terapéutico es pembrolizumab.

15 En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende un inhibidor de la menina-MLL de la Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es talidomida.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A** o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este,  
20 y al menos un otro agente terapéutico es talidomida.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A1**, y al menos un otro agente terapéutico es talidomida.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A2**, y al menos un otro agente terapéutico es talidomida.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A3**, y al menos un otro agente terapéutico es talidomida.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-a** o un solvato de este, y al menos un otro agente terapéutico es talidomida.

5        En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-b** o un hidrato de este, y al menos un otro agente terapéutico es talidomida.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4**, y al menos un otro agente terapéutico es talidomida.

10       En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende un inhibidor de la menina-MLL de la Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es lenalidomida.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A** o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es lenalidomida.

15       En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A1**, y al menos un otro agente terapéutico es lenalidomida.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A2**, y al menos un otro agente terapéutico es lenalidomida.

20       En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A3**, y al menos un otro agente terapéutico es lenalidomida.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-a** o un solvato de este, y al menos un otro agente terapéutico es lenalidomida.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-b** o un hidrato de este, y al menos un otro agente terapéutico es lenalidomida.

5 En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4**, y al menos un otro agente terapéutico es lenalidomida.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende un inhibidor de la menina-MLL de la Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es pomalidomida.

10 En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A** o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es pomalidomida.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A1**, y al menos un otro agente terapéutico es pomalidomida.

15 En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A2**, y al menos un otro agente terapéutico es pomalidomida.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A3**, y al menos un otro agente terapéutico es pomalidomida.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-a** o un solvato de este, y al menos un otro agente terapéutico es nivolumab.

20 En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-b** o un hidrato de este, y al menos un otro agente terapéutico es pomalidomida.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4**, y al menos un otro agente terapéutico es pomalidomida.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende un inhibidor de la menina-MLL de la Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es BCG.

5 En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A** o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es BCG.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A1**, y al menos un otro agente terapéutico es BCG.

10 En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A2**, y al menos un otro agente terapéutico es BCG.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A3**, y al menos un otro agente terapéutico es BCG.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-a** o un solvato de este, y al menos un otro agente terapéutico es BCG.

15 En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-b** o un hidrato de este, y al menos un otro agente terapéutico es BCG.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4**, y al menos un otro agente terapéutico es BCG.

20 En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende un inhibidor de la menina-MLL de la Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es levamisol.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A** o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es levamisol.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A1**, y al menos un otro agente terapéutico es levamisol.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A2**, y al menos un otro agente terapéutico es levamisol.

5 En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A3**, y al menos un otro agente terapéutico es levamisol.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-a** o un solvato de este, y al menos un otro agente terapéutico es levamisol.

10 En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-b** o un hidrato de este, y al menos un otro agente terapéutico es levamisol.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4**, y al menos un otro agente terapéutico es levamisol.

15 En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende un inhibidor de la menina-MLL de la Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico, en donde al menos un otro agente terapéutico es un inhibidor de DHODH.

20 En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende un inhibidor de la menina-MLL de la Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico, en donde al menos un otro agente terapéutico es un compuesto inhibidor de DHODH como se describe en la presente descripción.

De acuerdo con las modalidades, el inhibidor de DHODH es un compuesto de Fórmula (Z), o una sal, isótopo, N-óxido, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende un inhibidor de la menina-MLL de la Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es un inhibidor de DHODH de la Fórmula (Z), o una sal, isótopo, N-óxido, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A** o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es un inhibidor de DHODH de la Fórmula (Z), o una sal, isótopo, N-óxido, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A1**, y al menos un otro agente terapéutico es un inhibidor de DHODH de la Fórmula (Z), o una sal, isótopo, N-óxido, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A2**, y al menos un otro agente terapéutico es un inhibidor de DHODH de la Fórmula (Z), o una sal, isótopo, N-óxido, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A3**, y al menos un otro agente terapéutico es un inhibidor de DHODH de la Fórmula (Z), o una sal, isótopo, N-óxido, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de este

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-a** o un solvato de este, y al menos un otro agente

terapéutico es un inhibidor de DHODH de la Fórmula (Z), o una sal, isótopo, N-óxido, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-b** o un hidrato de este, y al menos un otro agente  
5 terapéutico es un inhibidor de DHODH de la Fórmula (Z), o una sal, isótopo, N-óxido, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4**, y al menos un otro agente terapéutico es un inhibidor de DHODH de la Fórmula (Z), o una sal, isótopo, N-óxido, solvato o estereoisómero  
10 farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende un inhibidor de la menina-MLL de la Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es un inhibidor de DHODH que es el Compuesto **22** o una sal, solvato, estereoisómero, variante isotópica,  
15 o N-óxido farmacéuticamente aceptable de este (p. ej., 6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropil-2-(o-tolil)isoquinolin-1(2H)-ona).

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende un Compuesto **A** o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es un inhibidor de DHODH que es el  
20 Compuesto **22** o una sal, solvato, estereoisómero, variante isotópica, o N-óxido farmacéuticamente aceptable de este (p. ej., 6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropil-2-(o-tolil)isoquinolin-1(2H)-ona).

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A1**, y al menos un otro agente terapéutico es un inhibidor de

DHODH que es el Compuesto **22** o una sal, solvato, estereoisómero, variante isotópica, o N-óxido farmacéuticamente aceptable de este (p. ej., 6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropil-2-(o-tolil)isoquinolin-1(2H)-ona).

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que  
5 comprende el Compuesto **A2**, y al menos un otro agente terapéutico es un inhibidor de DHODH que es el Compuesto **22** o una sal, solvato, estereoisómero, variante isotópica, o N-óxido farmacéuticamente aceptable de este (p. ej., 6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropil-2-(o-tolil)isoquinolin-1(2H)-ona).

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que  
10 comprende el Compuesto **A3**, y al menos un otro agente terapéutico es un inhibidor de DHODH que es el Compuesto **22** o una sal, solvato, estereoisómero, variante isotópica, o N-óxido farmacéuticamente aceptable de este (p. ej., 6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropil-2-(o-tolil)isoquinolin-1(2H)-ona).

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende  
15 el Compuesto **A4-a** o un solvato de este, y al menos un otro agente terapéutico es un inhibidor de DHODH que es el Compuesto **22** o una sal, solvato, estereoisómero, variante isotópica, o N-óxido farmacéuticamente aceptable de este (p. ej., 6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropil-2-(o-tolil)isoquinolin-1(2H)-ona).

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende  
20 el Compuesto **A4-b** o un hidrato de este, y al menos un otro agente terapéutico es un inhibidor de DHODH que es el Compuesto **22** o una sal, solvato, estereoisómero, variante isotópica, o N-óxido farmacéuticamente aceptable de este (p. ej., 6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropil-2-(o-tolil)isoquinolin-1(2H)-ona).

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4**, y al menos un otro agente terapéutico es un inhibidor de DHODH que es el Compuesto **22** o una sal, solvato, estereoisómero, variante isotópica, o N-óxido farmacéuticamente aceptable de este (p. ej., 6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropil-2-(o-tolil)isoquinolin-1(2H)-ona).

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende un inhibidor de la menina-MLL de la Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico, en donde al menos un otro agente terapéutico es un inhibidor de quinasa.

De acuerdo con las modalidades, el inhibidor de quinasa es un inhibidor de serina y/o tirosina quinasa.

De acuerdo con las modalidades, el inhibidor de quinasa es un inhibidor de FLT3 y/o BTK.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende un inhibidor de la menina-MLL de la Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico, en donde al menos un otro agente terapéutico es un inhibidor de FLT3.

De acuerdo con las modalidades, el inhibidor de FLT3 es sorafenib, sunitinib, midostaurina (PKC412), lestaurtinib (CEP-701), tandutinib (MLN518), quizartinib (AC220), gilteritinib (ASP2215), o KW-2449,

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende un inhibidor de la menina-MLL de la Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es sorafenib.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A** o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es sorafenib.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que  
5 comprende el Compuesto **A1**, y al menos un otro agente terapéutico es sorafenib.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A2**, y al menos un otro agente terapéutico es sorafenib.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A3**, y al menos un otro agente terapéutico es sorafenib.

10 En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-a** o un solvato de este, y al menos un otro agente terapéutico es sorafenib.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-b** o un hidrato de este, y al menos un otro agente terapéutico es sorafenib.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que  
15 comprende el Compuesto **A4**, y al menos un otro agente terapéutico es sorafenib.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende un inhibidor de la menina-MLL de la Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es sorafenib.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que  
20 comprende el Compuesto **A** o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es sunitinib.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A1**, y al menos un otro agente terapéutico es sunitinib.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A2**, y al menos un otro agente terapéutico es sunitinib.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A3**, y al menos un otro agente terapéutico es sunitinib.

5        En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-a** o un solvato de este, y al menos un otro agente terapéutico es sunitinib.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-b** o un hidrato de este, y al menos un otro agente terapéutico es sunitinib.

10       En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4**, y al menos un otro agente terapéutico es sunitinib.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende un inhibidor de la menina-MLL de la Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es midostaurina.

15       En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A** o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es midostaurina.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A1**, y al menos un otro agente terapéutico es midostaurina.

20       En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A2**, y al menos un otro agente terapéutico es midostaurina.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A3**, y al menos un otro agente terapéutico es midostaurina.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-a** o un solvato de este, y al menos un otro agente terapéutico es midostaurina.

5 En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-b** o un hidrato de este, y al menos un otro agente terapéutico es midostaurina.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4**, y al menos un otro agente terapéutico es midostaurina.

10 En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende un inhibidor de la menina-MLL de la Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es lestaurtinib.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A** o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es lestaurtinib.

15 En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A1**, y al menos un otro agente terapéutico es lestaurtinib.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A2**, y al menos un otro agente terapéutico es lestaurtinib.

20 En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A3**, y al menos un otro agente terapéutico es lestaurtinib.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-a** o un solvato de este, y al menos un otro agente terapéutico es lestaurtinib.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-b** o un hidrato de este, y al menos un otro agente terapéutico es lestaurtinib.

5 En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4**, y al menos un otro agente terapéutico es lestaurtinib.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende un inhibidor de la menina-MLL de la Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es tandutinib.

10 En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A** o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es tandutinib.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A1**, y al menos un otro agente terapéutico es tandutinib.

15 En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A2**, y al menos un otro agente terapéutico es tandutinib.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A3**, y al menos un otro agente terapéutico es tandutinib.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-a** o un solvato de este, y al menos un otro agente terapéutico es tandutinib.

20 En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-b** o un hidrato de este, y al menos un otro agente terapéutico es tandutinib.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4**, y al menos un otro agente terapéutico es tandutinib.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende un inhibidor de la menina-MLL de la Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es AC220.

5 En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A** o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es AC220.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A1**, y al menos un otro agente terapéutico es AC220.

10 En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A2**, y al menos un otro agente terapéutico es AC220.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A3**, y al menos un otro agente terapéutico es AC220.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-a** o un solvato de este, y al menos un otro agente terapéutico es AC220.

15 En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-b** o un hidrato de este, y al menos un otro agente terapéutico es AC220.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4**, y al menos un otro agente terapéutico es AC220.

20 En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende un inhibidor de la menina-MLL de la Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es ASP2215.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A** o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es ASP2215.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A1**, y al menos un otro agente terapéutico es ASP2215.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A2**, y al menos un otro agente terapéutico es ASP2215.

5 En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A3**, y al menos un otro agente terapéutico es ASP2215.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-a** o un solvato de este, y al menos un otro agente terapéutico es ASP2215.

10 En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-b** o un hidrato de este, y al menos un otro agente terapéutico es ASP2215.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4**, y al menos un otro agente terapéutico es ASP2215.

15 En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende un inhibidor de la menina-MLL de la Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es KW-2449. En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A** o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es KW-2449.

20 En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A1**, y al menos un otro agente terapéutico es KW-2449.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A2**, y al menos un otro agente terapéutico es KW-2449.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A3**, y al menos un otro agente terapéutico es KW-2449.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-a** o un solvato de este, y al menos un otro agente terapéutico es KW-2449.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-b** o un hidrato de este, y al menos un otro agente terapéutico es KW-2449.

5        En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4**, y al menos un otro agente terapéutico es KW-2449.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende un inhibidor de la menina-MLL de la Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico, en donde  
10    al menos un otro agente terapéutico es un inhibidor de BTK.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A** o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es un inhibidor de BTK.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende  
15    el Compuesto **A1**, y al menos un otro agente terapéutico es un inhibidor de BTK.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A2**, y al menos un otro agente terapéutico es un inhibidor de BTK.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A3**, y al menos un otro agente terapéutico es un inhibidor de BTK.

20        En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-a** o un solvato de este, y al menos un otro agente terapéutico es un inhibidor de BTK.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-b** o un hidrato de este, y al menos un otro agente terapéutico es un inhibidor de BTK.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende  
5 el Compuesto **A4**, y al menos un otro agente terapéutico es un inhibidor de BTK.

De acuerdo con las modalidades, el inhibidor de BTK es ibrutinib.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende un inhibidor de la menina-MLL de la Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es ibrutinib.

10 En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A** o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es ibrutinib.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A1**, y al menos un otro agente terapéutico es ibrutinib.

15 En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A2**, y al menos un otro agente terapéutico es ibrutinib.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A3**, y al menos un otro agente terapéutico es ibrutinib.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende  
20 el Compuesto **A4-a** o un solvato de este, y al menos un otro agente terapéutico es ibrutinib.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-b** o un hidrato de este, y al menos un otro agente terapéutico es ibrutinib.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4**, y al menos un otro agente terapéutico es ibrutinib.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende un inhibidor de la menina-MLL de la Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico, en donde al menos un otro agente terapéutico es un inhibidor de CD20.

- 5 De acuerdo con las modalidades, el inhibidor de CD20 es un anticuerpo anti-CD20, en particular obinutuzumab (GA101).

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A** o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es un inhibidor de CD20.

- 10 En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A1**, y al menos un otro agente terapéutico es un inhibidor de CD20.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A2**, y al menos un otro agente terapéutico es un inhibidor de CD20.

- 15 En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A3**, y al menos un otro agente terapéutico es un inhibidor de CD20.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-a** o un solvato de este, y al menos un otro agente terapéutico es un inhibidor de CD20.

- 20 En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-b** o un hidrato de este, y al menos un otro agente terapéutico es un inhibidor de CD20.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4**, y al menos un otro agente terapéutico es un inhibidor de CD20.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende un inhibidor de la menina-MLL de la Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es GA101.

5 En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A** o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un otro agente terapéutico es GA101.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A1**, y al menos un otro agente terapéutico es GA101.

10 En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A2**, y al menos un otro agente terapéutico es GA101.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A3**, y al menos un otro agente terapéutico es GA101.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-a** o un solvato de este, y al menos un otro agente terapéutico es GA101.

15 En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4-b** o un hidrato de este, y al menos un otro agente terapéutico es GA101.

En algunas modalidades, se proporciona una terapia de combinación que comprende el Compuesto **A4**, y al menos un otro agente terapéutico es GA101.

20 Se considera que todas las combinaciones posibles de las modalidades indicadas anteriormente están abarcadas dentro del alcance de la invención.

En algunas modalidades, se proporcionan métodos para tratar a un sujeto que ha sido diagnosticado con un trastorno hematopoyético. La presente invención se relaciona, por ejemplo, con métodos novedosos que comprenden administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de un inhibidor de menina-MLL como se

describe en la presente descripción; y una cantidad terapéuticamente efectiva de al menos un otro agente terapéutico.

Una modalidad adicional de la invención se relaciona con métodos como se describen en la presente descripción, en donde el compuesto de Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este, se administra por vía oral a un sujeto.

Una modalidad adicional de la invención se relaciona con los métodos que se describen en la presente descripción, en donde el compuesto de la Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este se administra en una dosis de aproximadamente 1 mg/kg a aproximadamente 50 mg/kg al sujeto.

Una modalidad adicional de la invención se relaciona con los métodos que se describen en la presente descripción, en donde el compuesto de la Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este se administra en una dosis de aproximadamente 2,5 mg/kg a aproximadamente 25 mg/kg al sujeto.

Una modalidad adicional de la invención se relaciona con métodos como se describen en la presente descripción, en donde el compuesto de Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este, se administra en una dosis de aproximadamente 7,5 mg/kg a aproximadamente 12,5 mg/kg al sujeto.

Una modalidad adicional de la invención se relaciona con los métodos que se describen en la presente descripción, en donde el compuesto de la Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este se administra en una dosis de aproximadamente 8 mg/kg a aproximadamente 10 mg/kg al sujeto.

Una modalidad adicional de la invención se relaciona con métodos como se describen en la presente descripción, en donde el compuesto de Fórmula (I), o una sal

o un solvato farmacéuticamente aceptable de este, se administra en una dosis de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 5 mg al sujeto.

Una modalidad adicional de la invención se relaciona con los métodos que se describen en la presente descripción, en donde el al menos un otro agente terapéutico se administra por vía oral a un sujeto.

Una modalidad adicional de la invención se relaciona con los métodos que se describen en la presente descripción, en donde el al menos un otro agente terapéutico se administra por vía oral en una dosis de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 500 mg al sujeto.

Una modalidad adicional de la invención se relaciona con los métodos que se describen en la presente descripción, en donde al menos un otro agente terapéutico se administra al sujeto por vía intravenosa o subcutánea.

Una modalidad adicional de la invención se relaciona con los métodos que se describen en la presente descripción, en donde al menos un otro agente terapéutico se administra por vía intravenosa o subcutánea en una dosis de aproximadamente 10 mg/m<sup>2</sup> a aproximadamente 250 mg/m<sup>2</sup> al sujeto.

Una modalidad adicional de la invención se relaciona con los métodos que se describen en la presente descripción, en donde al menos un otro agente terapéutico se administra por vía intravenosa o subcutánea en una dosis de aproximadamente 50 mg/m<sup>2</sup> a aproximadamente 150 mg/m<sup>2</sup> al sujeto.

Una modalidad adicional de la invención se relaciona con los métodos que se describen en la presente descripción, en donde al menos un otro agente terapéutico se administra por vía intravenosa o subcutánea en una dosis de aproximadamente 60 mg/m<sup>2</sup> a aproximadamente 100 mg/m<sup>2</sup> al sujeto.

Una modalidad adicional de la invención se relaciona con los métodos que se describen en la presente descripción, en donde al menos un otro agente terapéutico se administra por vía intravenosa o subcutánea en una dosis de aproximadamente 75 mg/m<sup>2</sup> al sujeto.

5           Una modalidad adicional de la invención se relaciona con métodos para tratar a un sujeto que ha sido diagnosticado con cáncer (p. ej., en donde el cáncer es un trastorno hematopoyético, tal como el síndrome mielodisplásico (MDS), leucemia mieloide aguda (AML), leucemia linfoblástica aguda (ALL), un linfoma linfocítico pequeño (SLL) o leucemia linfocítica crónica (CLL), en donde el método comprende administrar al sujeto:

10           una cantidad terapéuticamente efectiva de un inhibidor de menina-MLL de Fórmula (I), o un tautómero o una forma estereoisomérica de este, o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este; y

            una cantidad terapéuticamente efectiva de un inhibidor de DHODH de Fórmula (Z) o una sal, isótopo, N-óxido, solvato, o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de este;

15           por ejemplo, en donde el inhibidor de menina-MLL y el inhibidor de DHODH se administran de acuerdo con sus esquemas de dosificación durante un período de tiempo, p. ej., (i) simultánea o secuencialmente en cualquier orden en el mismo día o en un período de tiempo (p. ej., un período de 21 días, o un período de 28 días, o un período de 3 meses, o un período de 6 meses, o un período de un año, etc.), y/o (ii) en  
20           diferentes días dentro de un período de tiempo.

Una modalidad adicional de la invención se relaciona con métodos para tratar a un sujeto que ha sido diagnosticado con cáncer (p. ej., en donde el cáncer es un trastorno hematopoyético, tal como el síndrome mielodisplásico (MDS), leucemia mieloide aguda

(AML), leucemia linfoblástica aguda (ALL), un linfoma linfocítico pequeño (SLL) o leucemia linfocítica crónica (CLL), en donde el método comprende administrar al sujeto:

una cantidad terapéuticamente efectiva de un inhibidor de menina-MLL que es el Compuesto **A** o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de este (p. ej.,

5 Compuesto **A1** o Compuesto **A2** o Compuesto **A3** o compuesto **A4-a** o un solvato de este, o Compuesto **A4-b** o un hidrato de este, o Compuesto **A4**); y

una cantidad terapéuticamente efectiva de un inhibidor de DHODH que es Compuesto **22** o una sal, solvato, estereoisómero, variante isotópica, o N-óxido farmacéuticamente aceptable de este (p. ej., 6-(4-etil-3-(hidroximetil)-5-oxo-4,5-dihidro-

10 1H-1,2,4-triazol-1-il)-7-fluoro-4-isopropil-2-(o-tolil) isoquinolin-1(2H)-ona);

por ejemplo, en donde el inhibidor de menina-MLL y el inhibidor de DHODH se administran de acuerdo con sus esquemas de dosificación durante un período de tiempo, p. ej., (i) simultánea o secuencialmente en cualquier orden en el mismo día o en un período de tiempo (p. ej., un período de 21 días, o un período de 28 días, o un

15 período de 3 meses, o un período de 6 meses, o un período de un año, etc.), y/o (ii) en diferentes días dentro de un período de tiempo.

Una modalidad adicional de la invención se relaciona con métodos como se describen en la presente descripción, en donde el compuesto de Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este, se administra al sujeto diariamente.

20 Una modalidad adicional de la invención se relaciona con métodos como se describen en la presente descripción, en donde el compuesto de Fórmula (I), o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de este, se administra al sujeto diariamente durante al menos 7 días.

Una modalidad adicional de la invención se relaciona con los métodos que se describen en la presente descripción, en donde el al menos un otro agente terapéutico se administra al sujeto diariamente.

5 Una modalidad adicional de la invención se relaciona con los métodos que se describen en la presente descripción, en donde el al menos un otro agente terapéutico se administra al sujeto diariamente durante al menos 7 días.

Una modalidad adicional de la invención se relaciona con los métodos que se describen en la presente descripción, en donde al menos un otro agente terapéutico se administra al sujeto diariamente.

10 Una modalidad adicional de la invención se relaciona con los métodos que se describen en la presente descripción, en donde al menos un otro agente terapéutico se administra al sujeto diariamente durante al menos 21 días.

Las dosificaciones óptimas de cualquiera de los compuestos terapéuticos descritos en la presente descripción que se administrarán pueden determinarse fácilmente y variarán  
15 con el compuesto particular usado, el modo de administración, la concentración de la preparación y el avance de la enfermedad, síndrome, afección o trastorno. Además, los factores asociados con el sujeto particular que se va a tratar, que incluyen: género, edad, peso, dieta y tiempo de administración, resultará en la necesidad de ajustar la dosis para alcanzar un nivel terapéutico adecuado y el efecto terapéutico deseado.

20 Por lo tanto, las dosificaciones anteriores ilustran el caso promedio. Pueden existir, por supuesto, casos individuales en donde se ameritan rangos de dosificaciones mayores o menores y estos se encuentran dentro del alcance de la presente invención.

Los compuestos terapéuticos descritos en la presente descripción pueden administrarse en cualquiera de las composiciones y regímenes de dosificación

anteriores o por medio de aquellas composiciones y regímenes de dosificación establecidos en la técnica cada vez que se administra el uso de los compuestos terapéuticos descritos en la presente descripción a un sujeto que necesita de este.

Los compuestos terapéuticos descritos en la presente descripción pueden administrarse al sujeto simultánea o secuencialmente. Cuando se administran secuencialmente, el inhibidor de menina-MLL de Fórmula (I) se puede administrar primero. Cuando la administración es simultánea, la combinación se puede administrar ya sea en la misma composición farmacéutica o en una composición farmacéutica diferente. Por ejemplo, el inhibidor de la menina-MLL de la Fórmula (I) se puede administrar antes, simultáneamente con o después de la administración de al menos un otro agente terapéutico. De la misma manera, al menos un otro agente terapéutico se puede administrar antes, simultáneamente con o después de la administración de otro agente terapéutico. La terapia adyuvante, es decir, donde uno o dos agentes se usan como el tratamiento primario y el otro agente se usa para ayudar a ese tratamiento primario, es también una modalidad de la presente invención.

Una modalidad de la invención se relaciona con una cantidad terapéuticamente efectiva de un inhibidor de la menina-MLL que incluye los compuestos de la Fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables, y los solvatos de este, o cualquier subgrupo de este como se menciona en cualquiera de las modalidades, para usar en combinación con una cantidad terapéuticamente efectiva de al menos un otro agente terapéutico, en donde el al menos un otro agente terapéutico es un agente hipometilante, inhibidor de citidina desaminasa, un agente intercalante del ADN, un análogo de pirimidina, un análogo de purina, un inhibidor de quinasa, un inhibidor de CD20, un inhibidor de isocitrato deshidrogenasa, un agente inmunomodulador o un inhibidor de dihidroorotato deshidrogenasa. En ciertas modalidades, las cantidades terapéuticamente efectivas

mencionadas anteriormente se administran en formas de dosificación separadas para usar en el tratamiento de un sujeto que ha sido diagnosticado con un trastorno hematopoyético.

Una modalidad de la invención se relaciona con un producto farmacéutico que incluye un inhibidor de la menina-MLL de la Fórmula (I) y las sales farmacéuticamente  
5 aceptables, y los solvatos de este, o cualquier subgrupo de este como se mencionó en cualquiera de las modalidades, y al menos un otro agente terapéutico es un agente hipometilante, inhibidor de citidina desaminasa, un agente intercalante del ADN, un análogo de pirimidina, un análogo de purina, un inhibidor de quinasa, un inhibidor de CD20, un inhibidor de isocitrato deshidrogenasa, un agente inmunomodulador o un  
10 inhibidor de dihidroorotato deshidrogenasa como una preparación combinada para uso simultáneo, separado o secuencial en el tratamiento de un sujeto que ha sido diagnosticado con un trastorno hematopoyético.

Los siguientes ejemplos se proporcionan para ilustrar algunos de los conceptos descritos en esta descripción. Si bien se considera que el Ejemplo proporciona una  
15 modalidad, no debe considerarse que limita las modalidades más generales descritas en la presente descripción.

## **EJEMPLOS**

### **Esquemas sintéticos generales**

#### **20 Azacitidina**

La azacitidina está disponible comercialmente.

### Compuestos de la Fórmula I

En esta sección, como en todas las otras secciones a menos que el contexto lo indique de cualquier otra manera, las referencias a la Fórmula (I) también incluyen todos los otros subgrupos y ejemplos de estos como se define en la presente descripción.

5           La preparación general de algunos ejemplos típicos de los compuestos de la Fórmula (I) se describe a continuación y en los ejemplos específicos, y se prepara generalmente a partir de materiales de partida que se encuentran disponibles comercialmente o se preparan mediante procesos sintéticos estándar usados comúnmente por los expertos en la técnica de química orgánica. Los siguientes esquemas solo pretenden representar ejemplos de la  
10   invención y de ninguna manera pretenden limitar la invención.

Alternativamente, los compuestos de la Fórmula (I) también pueden prepararse mediante protocolos de reacción análoga como se describe en los esquemas generales más abajo, combinados con procesos sintéticos estándar usados comúnmente por los expertos en la técnica.

15           El experto se dará cuenta que en las reacciones descritas en los Esquemas, aunque esto no siempre se muestra explícitamente, puede ser necesario proteger los grupos funcionales reactivos (por ejemplo, grupos hidroxilo, amino o carboxi) donde estos se desean en el producto final, para evitar su participación no deseada en las reacciones. Generalmente, los grupos protectores (PG) convencionales pueden usarse  
20   de acuerdo con la práctica estándar. Los grupos protectores pueden retirarse en una etapa posterior conveniente, por medio del uso de métodos conocidos en la técnica.

El experto se dará cuenta que en las reacciones descritas en los esquemas, puede ser aconsejable o necesario realizar la reacción bajo una atmósfera inerte, tal como, por ejemplo, bajo atmósfera de gas de N<sub>2</sub>.

Resultará evidente para el experto que pueda ser necesario enfriar la mezcla de reacción antes del tratamiento de reacción (se refiere a la serie de manipulaciones requeridas para aislar y purificar el(los) producto(s) de una reacción química tal como, por ejemplo, enfriamiento, cromatografía de columna, extracción).

5 El experto se dará cuenta que calentar la mezcla de reacción bajo agitación puede mejorar el resultado de la reacción. En algunas reacciones, puede usarse calentamiento por microondas en lugar de calentamiento convencional para acortar el tiempo de reacción general.

El experto se dará cuenta que otra secuencia de las reacciones químicas  
10 mostradas en los Esquemas más abajo, también puede resultar en el compuesto deseado de la Fórmula (I).

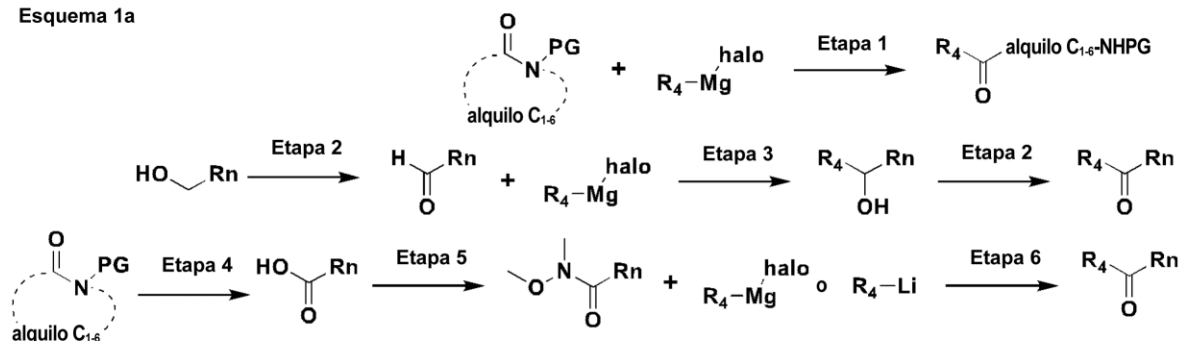
El experto se dará cuenta que los intermedios y los compuestos finales mostrados en los Esquemas más abajo pueden funcionalizarse además de acuerdo con los métodos bien conocidos por el experto en la técnica. Los intermedios y compuestos descritos en  
15 la presente descripción pueden aislarse de forma libre o como una sal, o un solvato de estos. Los intermedios y compuestos descritos en la presente descripción puede sintetizarse en forma de mezclas de tautómeros y formas estereoisoméricas que pueden separarse entre sí siguiendo los procedimientos de resolución conocidos en la técnica.

Todas las abreviaturas usadas en los esquemas generales para la Fórmula (I) son  
20 como se definen en la Tabla 1B a continuación en la parte Ejemplos. Las variables son como se definen en el alcance o como se definen específicamente en los esquemas generales.

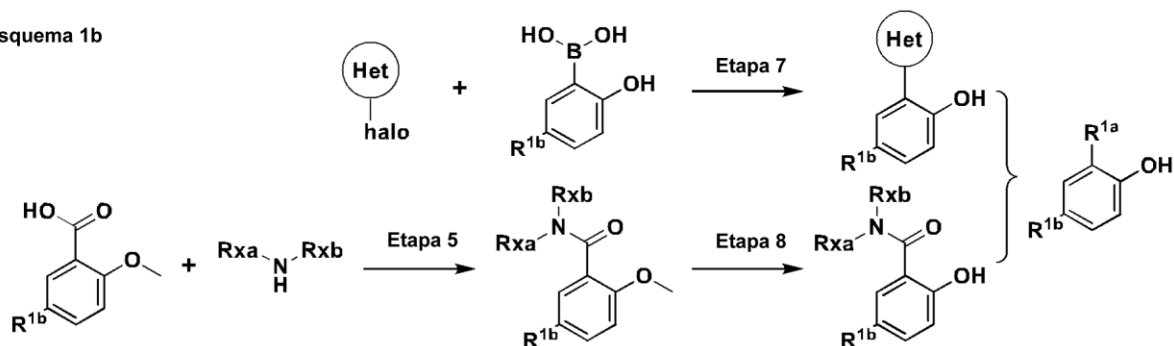
Parte A) Esquemas 1a, 1b, 1c, 2a, 2b y 3

$R_n = \text{alquilo } C_{1-6} - \text{NR}^{8a} \text{PG}$  o  $\text{alquilo } C_{1-6} - \text{OPG}$  o  $\text{alquilo } C_{1-6} - \text{C}(=\text{O})\text{OR}^{9a}$ , PG=grupo protector

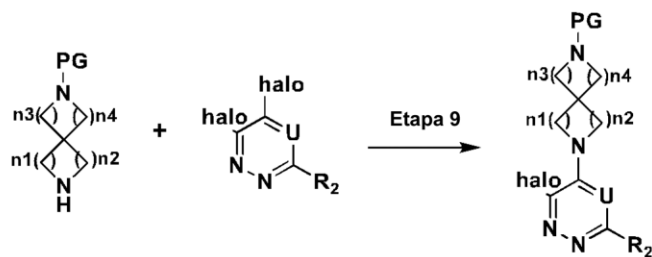
Esquema 1a



Esquema 1b



Esquema 1c



En los Esquemas 1a, 1b y 1c se aplican las siguientes condiciones de reacción:

Etapa 1: a una temperatura adecuada tal como por ejemplo, -70 °C, en presencia

- 5 de una base adecuada tal como, por ejemplo, TMEDA y un reactivo organometálico adecuado tal como, por ejemplo, bromuro de isopropilmagnesio, en un solvente adecuado tal como, por ejemplo, THF;

Etapa 2: a una temperatura adecuada tal como, por ejemplo, de 0 °C a RT, en presencia de un reactivo oxidativo adecuado tal como, por ejemplo, DMP, en un solvente adecuado tal como, por ejemplo, DCM;

5 Etapa 3: a una temperatura adecuada tal como, por ejemplo, de -20 °C a RT, en presencia de un reactivo organometálico adecuado tal como, por ejemplo, bromuro de isopropilmagnesio, en un solvente adecuado tal como, por ejemplo, THF;

Etapa 4: a una temperatura adecuada tal como, por ejemplo, 80 °C, en presencia de una base adecuada tal como, por ejemplo, NaOH, en solventes adecuados tales como, por ejemplo, THF y H<sub>2</sub>O;

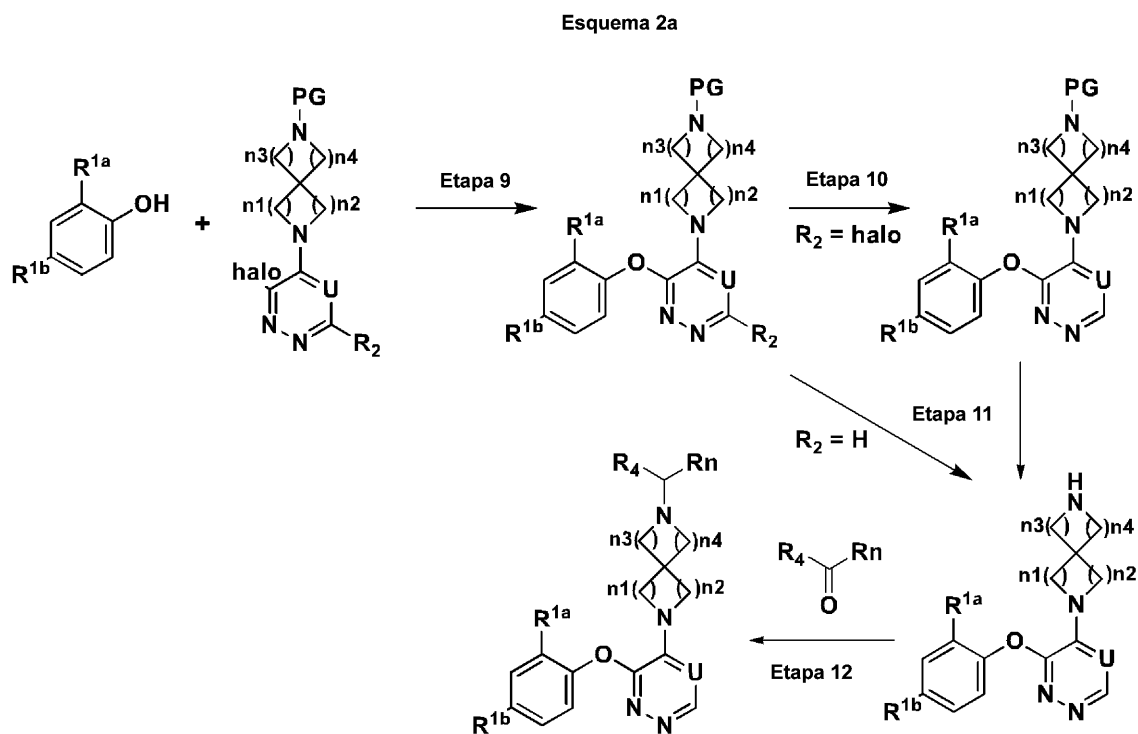
10 Etapa 5: a una temperatura adecuada tal como, por ejemplo, RT, en presencia de reactivos de condensación de amida adecuados tales como, por ejemplo, EDCI y HOBt, en presencia de una base adecuada tal como por ejemplo NMM, en un solvente adecuado tal como, por ejemplo, DCM;

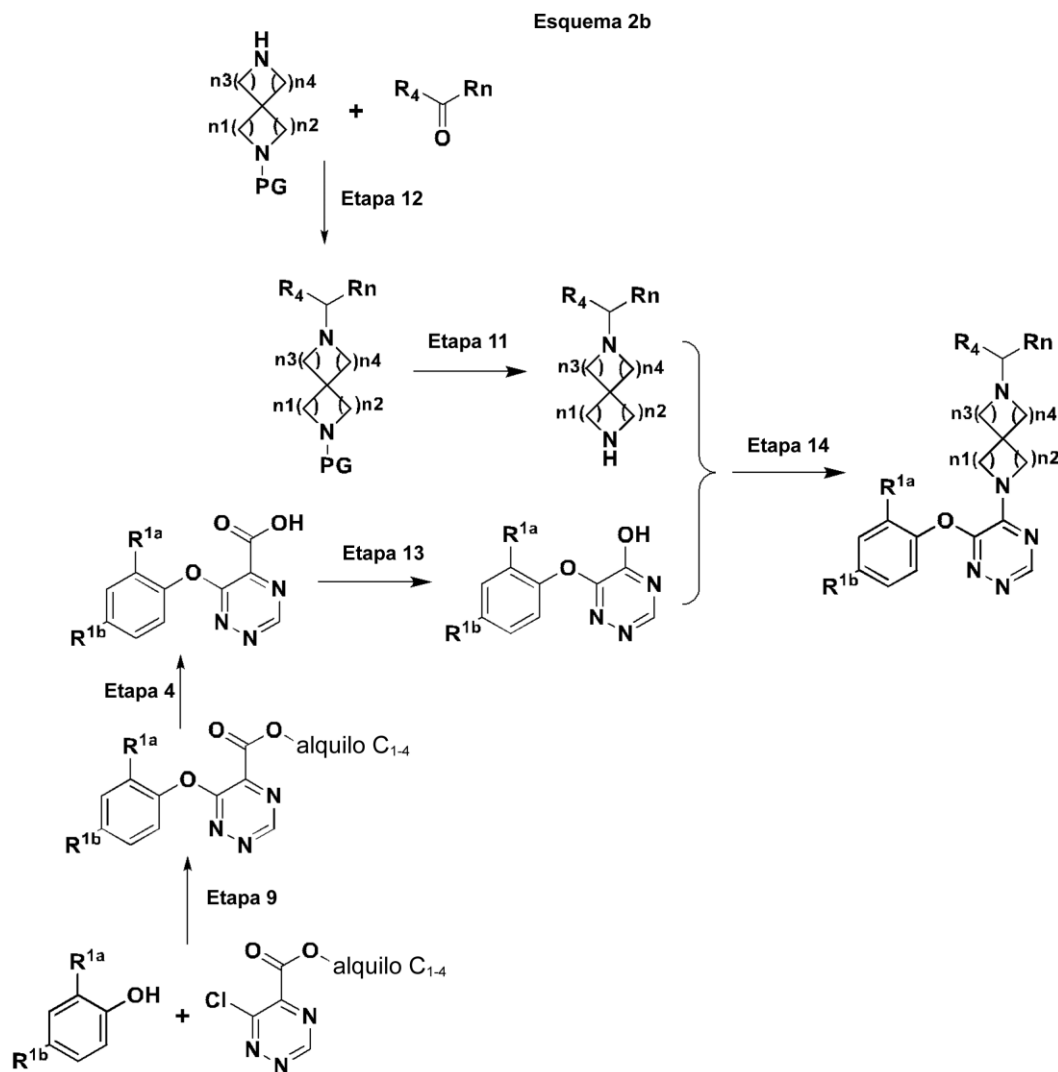
15 Etapa 6: a una temperatura adecuada tal como por ejemplo -70 °C, en presencia de un reactivo organometálico adecuado tal como, por ejemplo, isopropillitio, en un solvente adecuado tal como por ejemplo THF;

Etapa 7: a una temperatura adecuada tal como, por ejemplo, 90 °C, en presencia de un catalizador organometálico adecuado tal como, por ejemplo, Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>, en presencia de una base adecuada tal como, por ejemplo, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, en solventes  
20 adecuados tales como, por ejemplo 1,4-dioxano y H<sub>2</sub>O;

Etapa 8: a una temperatura adecuada tal como, por ejemplo, de 0 °C a RT, en presencia de un ácido de Lewis adecuado tal como, por ejemplo, BBr<sub>3</sub>, en un solvente adecuado tal como, por ejemplo, DCM;

Etapa 9: a una temperatura adecuada tal como, por ejemplo, de -78 °C a 40 °C, en particular de 0 °C a RT, en presencia de una base adecuada tal como, por ejemplo, TEA, DBU o K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, en un solvente adecuado tal como por ejemplo DCM, THF o DMF;





En los Esquemas 2a y 2b, se aplican las siguientes condiciones de reacción:

Etapa 9: Ver la Etapa 9 en el Esquema 1;

- 5 Etapa 10: a una temperatura adecuada tal como, por ejemplo, RT, en presencia de un catalizador adecuado tal como, por ejemplo, Pd/C, en presencia de un reactivo reductor adecuado tal como, por ejemplo,  $\text{H}_2$ , opcionalmente en presencia de una base adecuada tal como, por ejemplo, TEA, en un solvente adecuado tal como por ejemplo THF; Alternativamente, a una temperatura adecuada tal como RT, en presencia de un

catalizador adecuado tal como, por ejemplo,  $\text{Pd(dppf)Cl}_2$ ·un complejo DCM, un agente reductor adecuado tal como  $\text{NaBH}_4$ , una base adecuada tal como, por ejemplo, TMEDA, en un solvente adecuado tal como, por ejemplo, THF.

5 Etapa 11: para la desprotección N, a una temperatura adecuada tal como, por ejemplo, RT, en presencia de un ácido adecuado como, por ejemplo, TFA, en un solvente adecuado tal como, por ejemplo, DCM; para desprotección O, a una temperatura adecuada tal como, por ejemplo, RT, en presencia de un ácido adecuado como, por ejemplo, ácido 4-metilbencensulfónico, en un solvente adecuado tal como, por ejemplo, MeOH;

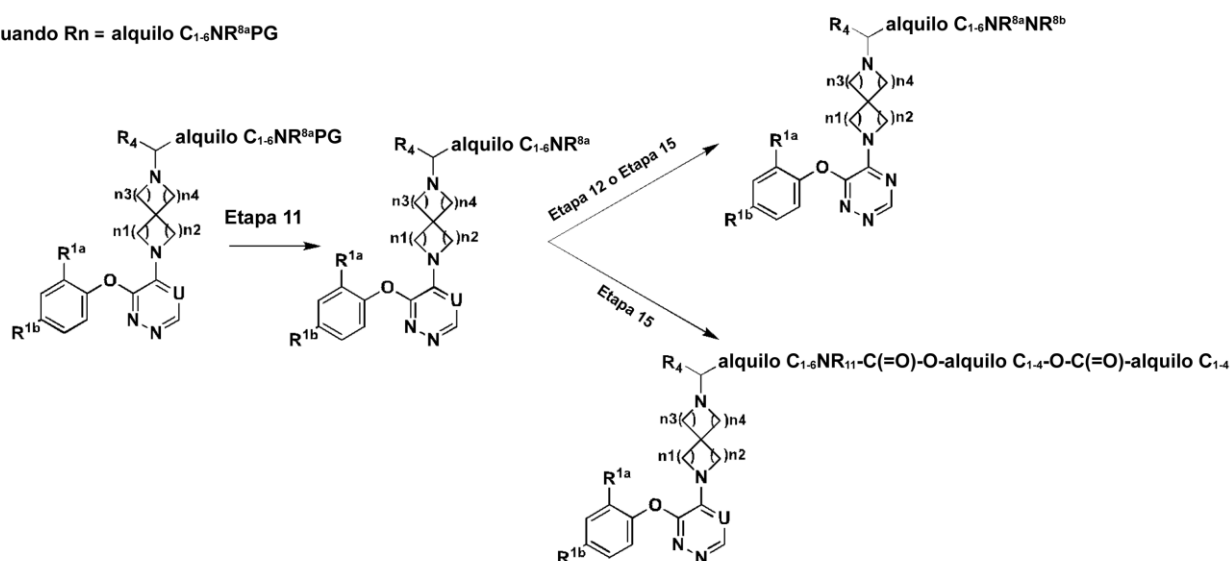
10 Etapa 12: a una temperatura adecuada tal como, por ejemplo, 80 °C, opcionalmente, en presencia de un ácido de Lewis adecuado, tal como, por ejemplo,  $\text{ZnCl}_2$ , en presencia de un reactivo reductor adecuado tal como, por ejemplo,  $\text{NaBH}_3\text{CN}$ , en un solvente adecuado tal como, por ejemplo, MeOH;

15 Etapa 13: a una temperatura adecuada tal como, por ejemplo, RT, en presencia de un catalizador organometálico adecuado tal como, por ejemplo,  $\text{Ag(Phen)}_2\text{OTf}$ , en presencia de un reactivo de bromación adecuado tal como, por ejemplo, 1,3-dibromo-1,3,5-triazinan-2,4,6-triona, en un solvente adecuado tal como, por ejemplo, DCE;

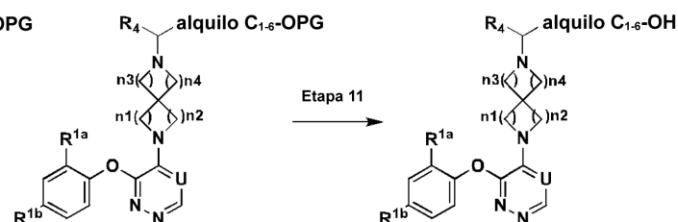
Etapa 14: a una temperatura adecuada tal como, por ejemplo, RT, en presencia de un reactivo de cloración adecuado tal como, por ejemplo, cloruro de oxalilo, en presencia de DMF, en un solvente adecuado tal como, por ejemplo, DCM.

Esquema 3

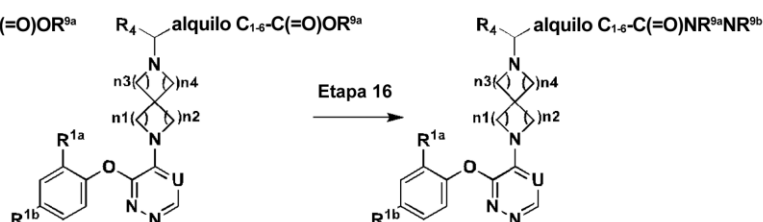
Cuando  $R_n = \text{alquilo } C_{1-6}NR^{8a}PG$



Cuando  $R_n = \text{alquilo } C_{1-6}-OPG$



Cuando  $R_n = \text{alquilo } C_{1-6}-C(=O)OR^{8a}$



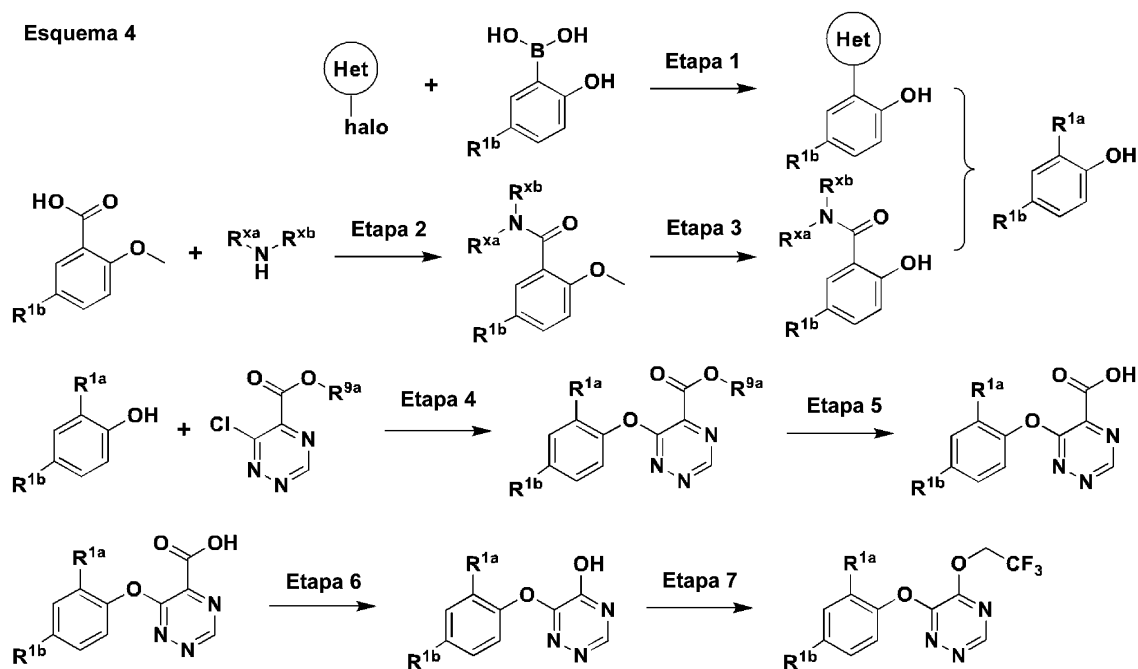
En el Esquema 3, se aplican las siguientes condiciones de reacción:

Etapa 11-12: Ver la Etapa 11-12 en el Esquema 2;

- 5 Etapa 15: a una temperatura adecuada tal como por ejemplo 80 °C, en presencia de una base adecuada tal como por ejemplo  $Cs_2CO_3$ , en solvente adecuado tal como, por ejemplo, DMF;

Etapa 16: a una temperatura adecuada tal como por ejemplo 40 °C, en presencia de una base adecuada tal como, por ejemplo, amoníaco, en un solvente adecuado tal como, por ejemplo, 1,4-dioxano.

5 Parte B) Esquemas 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 y 12



En el Esquema 4, se aplican las siguientes condiciones de reacción:

10 Etapa 1: a una temperatura adecuada tal como, por ejemplo, 90 °C, en presencia de un catalizador organometálico adecuado tal como, por ejemplo,  $Pd(dppf)Cl_2$ , en presencia de una base adecuada tal como, por ejemplo,  $Na_2CO_3$ , en solventes adecuados tales como, por ejemplo 1,4-dioxano y  $H_2O$ ;

Etapa 2: a una temperatura adecuada tal como, por ejemplo, RT, en presencia  
15 de reactivo de condensación de amida adecuado tal como, por ejemplo, HATU, en

presencia de una base adecuada tal como, por ejemplo, DIEA, en un solvente adecuado tal como, por ejemplo, DCM;

Etapa 3: a una temperatura adecuada tal como, por ejemplo, de -78 °C a RT, en presencia de un ácido de Lewis adecuado, tal como, por ejemplo, BBr<sub>3</sub>, en un solvente  
5 adecuado tal como, por ejemplo, DCM;

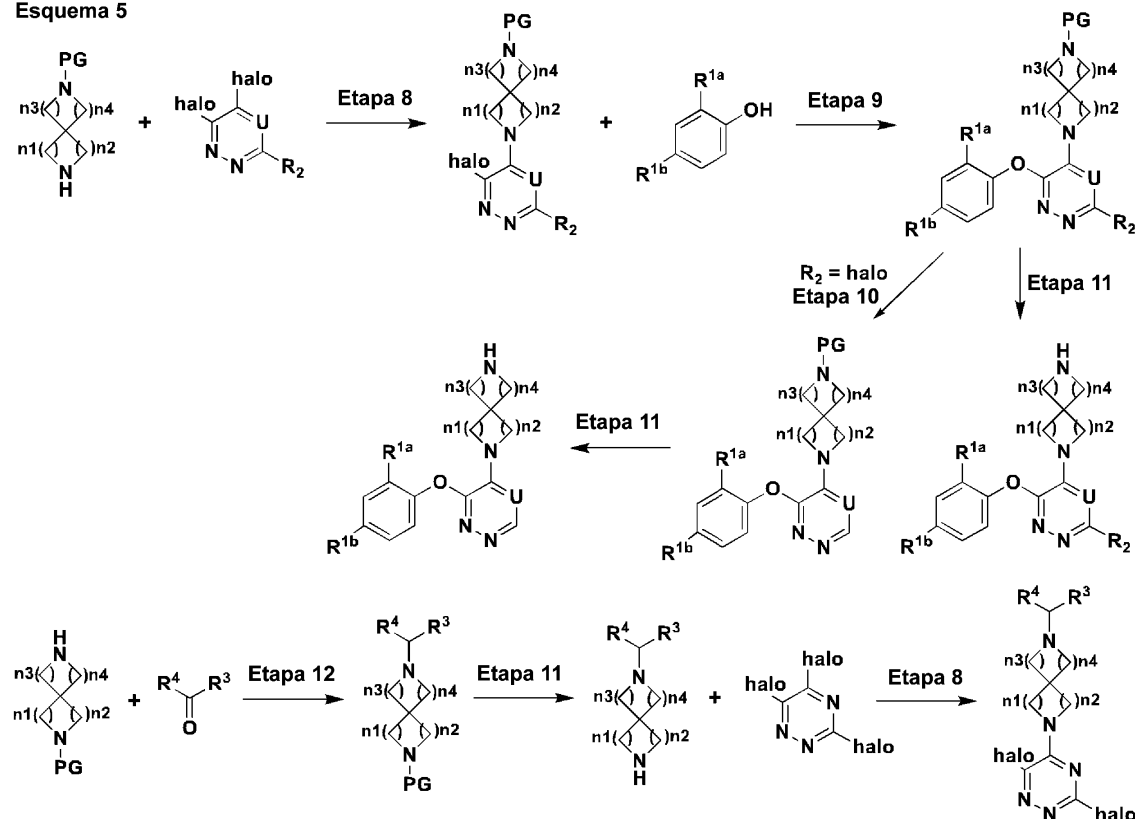
Etapa 4: a una temperatura adecuada tal como, por ejemplo de -78 °C a 40 °C, en particular de 0 °C a RT, en la presencia de una base adecuada tal como, por ejemplo TEA, DBU o K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, en un solvente adecuado tal como, por ejemplo DCM, THF o DMF;

Etapa 5: a una temperatura adecuada tal como, por ejemplo, RT, en presencia de  
10 una base adecuada tal como, por ejemplo, LiOH ·H<sub>2</sub>O, en solventes adecuados tales como, por ejemplo, THF y H<sub>2</sub>O;

Etapa 6: a una temperatura adecuada tal como, por ejemplo, RT, en presencia de un catalizador organometálico adecuado tal como, por ejemplo, Ag (Phen)<sub>2</sub>OTf, en presencia de un reactivo de bromación adecuado tal como, por ejemplo, 1,3-dibromo-  
15 1,3,5-triazinan-2,4,6-triona, en un solvente adecuado tal como, por ejemplo, DCE;

Etapa 7: a una temperatura adecuada tal como, por ejemplo, RT, en presencia de un reactivo de bromación adecuado tal como 1,3-dibromo-1,3,5-triazinan-2,4,6-triona, en presencia de 2,2,2-trifluoroetan-1-ol como solvente.

Esquema 5



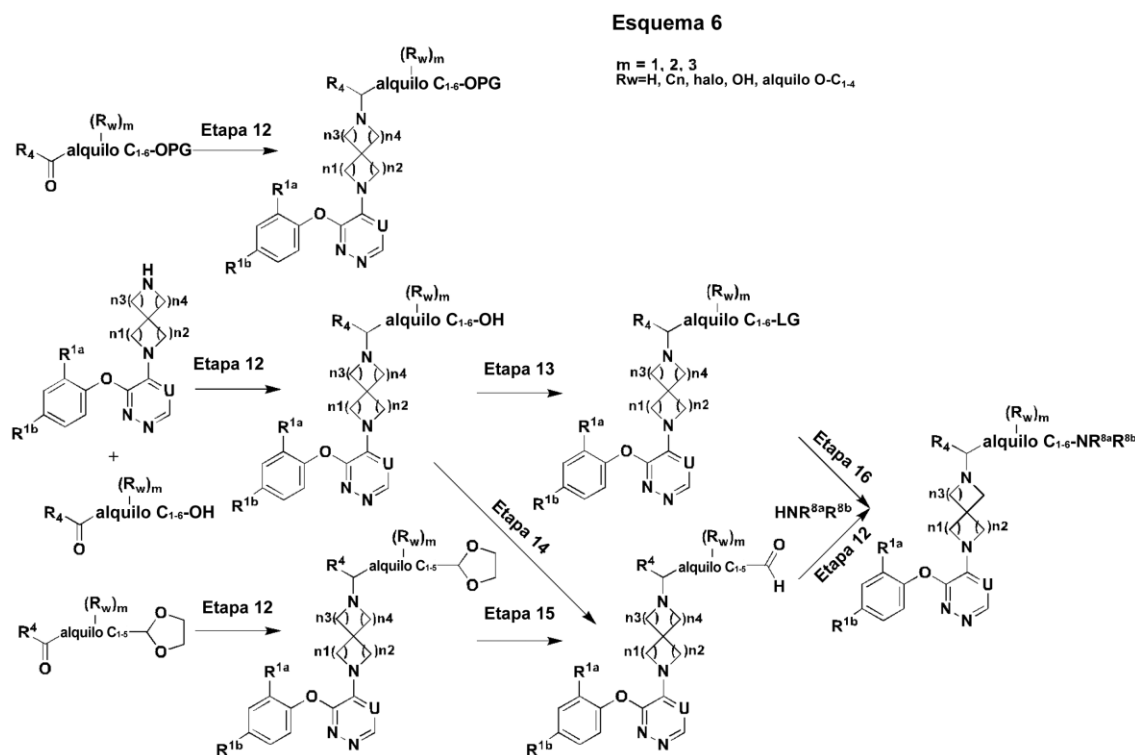
En el Esquema 5, se aplican las siguientes condiciones de reacción:

Etapa 8: a una temperatura adecuada tal como, por ejemplo de  $-78^\circ\text{C}$  a  $40^\circ\text{C}$ , en particular de  $0^\circ\text{C}$  a  $\text{RT}$ , en la presencia de una base adecuada tal como, por ejemplo TEA, DBU o  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , en un solvente adecuado tal como, por ejemplo DCM, THF o DMF;

Etapa 9: a una temperatura adecuada tal como, por ejemplo, de  $-78^\circ\text{C}$  a  $40^\circ\text{C}$ , en particular de  $0^\circ\text{C}$  a  $\text{RT}$ , en presencia de una base adecuada tal como, por ejemplo, TEA, DBU o  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , en un solvente adecuado tal como por ejemplo DCM, THF o DMF;

Etapa 10: a una temperatura adecuada tal como, por ejemplo,  $\text{RT}$ , en presencia de un catalizador organometálico adecuado como por ejemplo  $\text{Pd/C}$  y una base adecuada como por ejemplo TEA, en un solvente adecuado tal como, por ejemplo, MeOH bajo atmósfera de  $\text{H}_2$ ;

Etapa 11: Cuando PG es Boc, a una temperatura adecuada tal como, por ejemplo, RT, en presencia de un ácido adecuado como por ejemplo TFA, en un solvente adecuado tal como por ejemplo DCM.



En el Esquema 6, se aplican las siguientes condiciones de reacción:

Etapa 12: condición de aminación reductora, a una temperatura adecuada tal como, por ejemplo, de RT a 80 °C, en presencia o ausencia de un ácido de Lewis adecuado, tal como, por ejemplo, ZnCl<sub>2</sub> o un ácido, por ejemplo, AcOH, en presencia de un agente reductor adecuado tal como, por ejemplo, NaBH<sub>3</sub>CN, en un solvente adecuado tal como, por ejemplo, MeOH;

Etapa 13: a una temperatura adecuada tal como por ejemplo 0 °C, en presencia de un electrófilo adecuado como, por ejemplo,  $\text{MsCl}$ , en presencia de una base adecuada tal como, por ejemplo, TEA, en un solvente adecuado tal como, por ejemplo, DCM;

5 Etapa 14: a una temperatura adecuada tal como, por ejemplo, de 0 °C a RT, en presencia de un agente oxidante adecuado como, por ejemplo, DMP, en un solvente adecuado tal como, por ejemplo, DCM;

Etapa 15: a una temperatura adecuada tal como por ejemplo 50 °C, en presencia de un ácido adecuado como, por ejemplo, HCl, en un solvente adecuado tal como, por ejemplo, ACN;

10 Etapa 16: a una temperatura adecuada tal como, por ejemplo, RT, en presencia o ausencia de una base adecuada como por ejemplo TEA, en un solvente adecuado tal como, por ejemplo, THF.

[illegible]

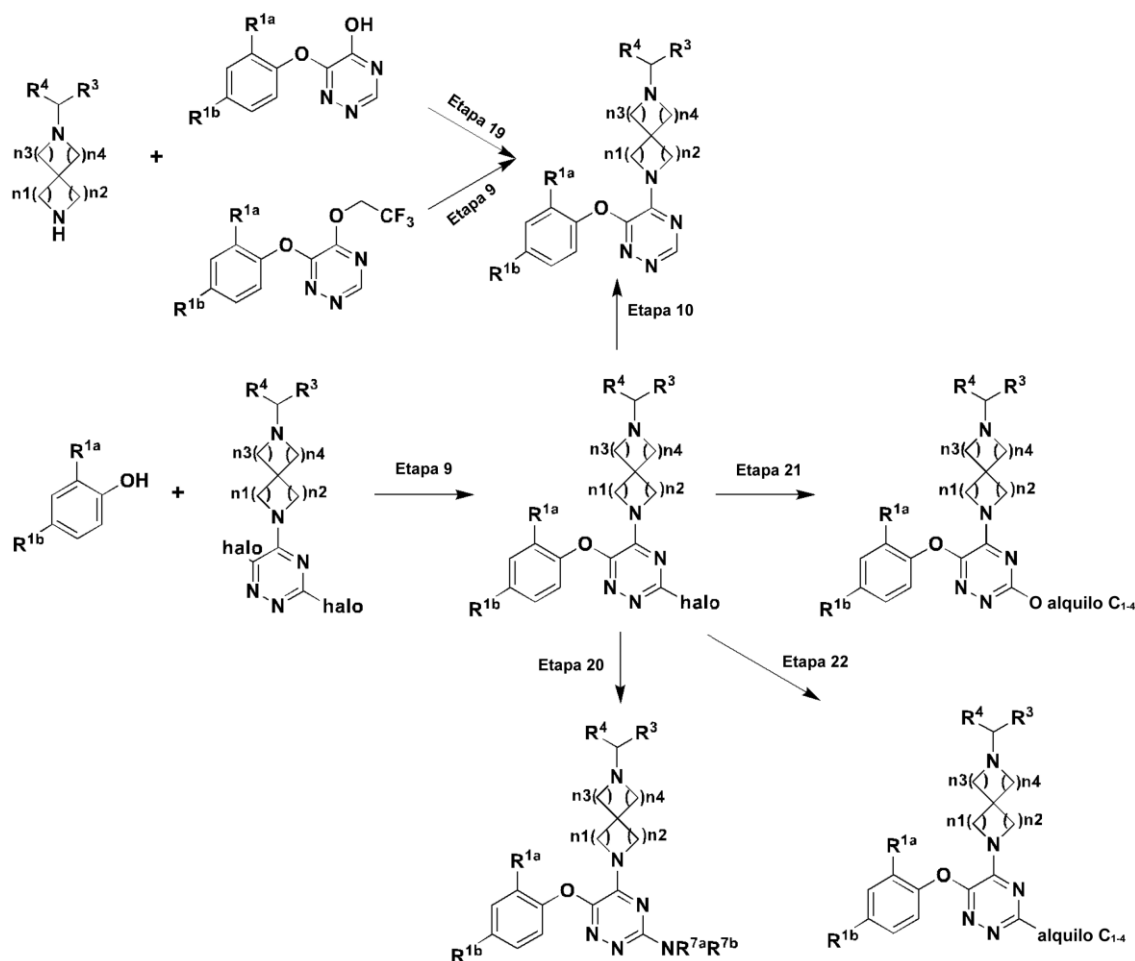
Etapa 11: Cuando PG es Boc, a una temperatura adecuada tal como, por ejemplo, RT, en presencia de un ácido adecuado como por ejemplo TFA, en un solvente adecuado tal como, por ejemplo, DCM;

Etapa 12: condición de aminación reductora, a una temperatura adecuada tal como, por ejemplo, de RT a 80 °C, en presencia o ausencia de un ácido de Lewis adecuado, tal como, por ejemplo,  $\text{ZnCl}_2$  o un ácido, por ejemplo,  $\text{AcOH}$ , en presencia de un agente reductor adecuado tal como, por ejemplo,  $\text{NaBH}_3\text{CN}$ , en un solvente adecuado tal como, por ejemplo,  $\text{MeOH}$ ;

Etapa 17: a una temperatura adecuada tal como, por ejemplo, de RT a 80 °C, en presencia de una base adecuada tal como, por ejemplo, DIEA o  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$ , en solvente adecuado tal como por ejemplo DCM o DMF;

Etapa 18: a una temperatura adecuada tal como por ejemplo 40 °C, en presencia de una base adecuada tal como, por ejemplo, amoníaco, en un solvente adecuado tal como para 1,4-dioxano.

Esquema 8



Etapa 9: a una temperatura adecuada tal como, por ejemplo, de -78 °C a 40 °C, en particular de 0 °C a RT, en presencia de una base adecuada tal como, por ejemplo, TEA, DBU o K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, en un solvente adecuado tal como por ejemplo DCM, THF o DMF;

5 Etapa 10: a una temperatura adecuada tal como, por ejemplo, RT, en presencia de un catalizador organometálico adecuado como por ejemplo Pd/C, opcionalmente en presencia de una base adecuada como por ejemplo TEA, en un solvente adecuado tal como, por ejemplo, MeOH bajo atmósfera de H<sub>2</sub>;

10 Etapa 19: a una temperatura adecuada tal como, por ejemplo, RT, en presencia de un reactivo de cloración adecuado tal como, por ejemplo, cloruro de oxalilo, en presencia de DMF, en un solvente adecuado tal como, por ejemplo, DCM;

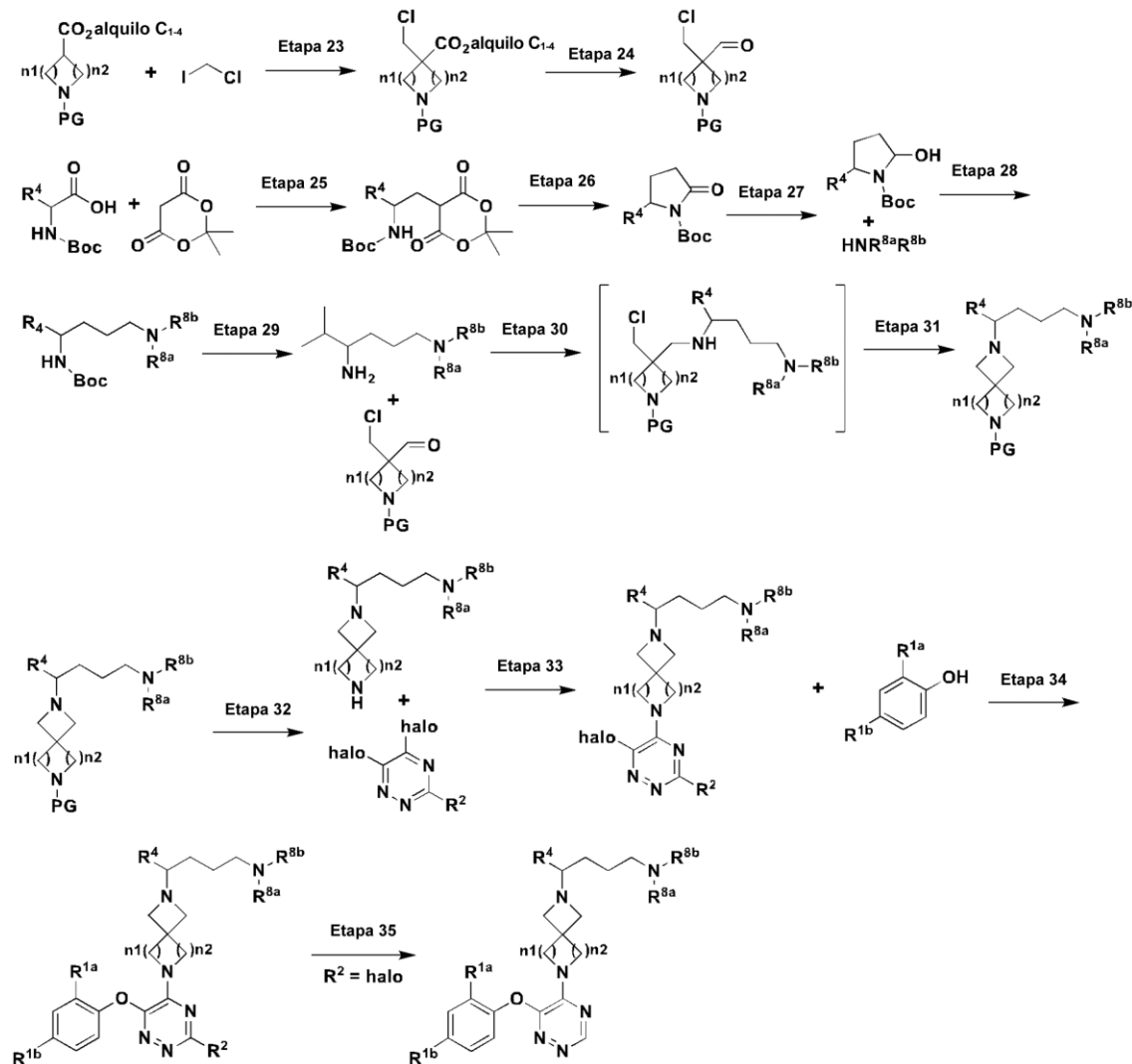
Etapa 20: a una temperatura adecuada tal como por ejemplo 90 °C, en presencia de una amina nucleofílica adecuada, en un solvente adecuado tal como, por ejemplo, EtOH;

15 Etapa 21: a una temperatura adecuada tal como, por ejemplo, RT, en presencia de un ácido adecuado tal como, por ejemplo, HCl en dioxano, en un solvente adecuado tal como, por ejemplo, MeOH;

Etapa 22: a una temperatura adecuada tal como, por ejemplo, 110 °C, en presencia de un reactivo de boro adecuado tal como, por ejemplo, trimetilboroxina, en presencia de un catalizador organometálico adecuado tal como, por ejemplo, tetraquis (trifenilfosfina) paladio(0), en presencia de una base adecuada tal como, por ejemplo, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, en un solvente adecuado tal como, por ejemplo, 1,4-dioxano;

20

Esquema 9



En el Esquema 9, se aplican las siguientes condiciones de reacción:

Etapa 23: a una temperatura adecuada tal como, por ejemplo, de -78 °C a -25 °C, en presencia de bases adecuadas tales como por ejemplo DIEA y n-BuLi, en un solvente adecuado tal como por ejemplo THF;

Etapa 24: a una temperatura adecuada tal como, por ejemplo, entre -65 °C y -55 °C, en presencia de un agente reductor adecuado tal como, por ejemplo, DIBAL-H,

en un solvente adecuado tal como, por ejemplo, tolueno, preferentemente, realizado en un sistema de química de flujo adecuado;

Paso 25: primero a una temperatura adecuada tal como por ejemplo de -10 °C a 10 °C, en presencia de una base adecuada tal como, por ejemplo, DMAP, en presencia  
5 de un agente de condensación adecuado tal como, por ejemplo, DCC, en un solvente adecuado tal como, por ejemplo, DCM; después a una temperatura adecuada tal como, por ejemplo, de -10 °C a 0 °C, en presencia de un ácido adecuado tal como, por ejemplo, AcOH, en presencia de un agente reductor adecuado tal como, por ejemplo, NaBH<sub>4</sub>, en un solvente adecuado tal como, por ejemplo, DCM;

10 Paso 26: en un solvente adecuado tal como, por ejemplo, tolueno y se calienta a reflujo;

Paso 27: a una temperatura adecuada tal como, por ejemplo, de -5 °C a 5 °C, en presencia de un agente reductor adecuado tal como, por ejemplo, LiBH<sub>4</sub>, en un solvente adecuado tal como, por ejemplo, 2-metiltetrahidrofurano;

15 Paso 28: a una temperatura adecuada tal como, por ejemplo, de 15 °C a 25 °C, en presencia de un agente reductor adecuado tal como, por ejemplo, NaBH(OAc)<sub>3</sub>, en un solvente adecuado tal como, por ejemplo, DCM;

Paso 29: a una temperatura adecuada tal como, por ejemplo, de 15 °C a 25 °C, en presencia de un ácido adecuado tal como para HCl, en un solvente adecuado tal  
20 como, por ejemplo, IPA;

Etapas 30: a una temperatura adecuada tal como, por ejemplo, de 5 °C a 30 °C, en presencia de una base adecuada tal como, por ejemplo, TEA, en presencia de un agente reductor adecuado tal como, por ejemplo, NaBH(OAc)<sub>3</sub>, en un solvente adecuado tal como, por ejemplo, tolueno;

Etapa 31: a una temperatura adecuada tal como, por ejemplo, de 50 °C a 55 °C, en presencia de una base adecuada tal como, por ejemplo,  $K_2HPO_4$ , en un solvente adecuado tal como, por ejemplo,  $H_2O$ ;

5 Etapa 32: Cuando PG es Bn a una temperatura adecuada tal como, por ejemplo, de -5 °C a 45 °C, bajo una atmósfera de hidrógeno dentro de un rango de presión adecuado tal como, por ejemplo, de 0,27 a 0,40 MPa, en presencia de un catalizador adecuado tal como, por ejemplo, hidróxido de paladio sobre carbono, en presencia de un ácido adecuado como, por ejemplo, MSA en un solvente adecuado tal como EtOH;

10 Etapa 33: a una temperatura adecuada tal como, por ejemplo, de -50 °C a -40 °C, en presencia de una base adecuada tal como, por ejemplo, TEA, en un solvente adecuado tal como 2-metiltetrahidrofurano;

Etapa 34: a una temperatura adecuada tal como, por ejemplo, de 20 °C a 30 °C, en presencia de una base adecuada tal como, por ejemplo, TMG, en un solvente adecuado tal como 2-metiltetrahidrofurano;

15 Etapa 35: a una temperatura adecuada tal como, por ejemplo, de 20 °C a 30 °C, en una atmósfera de hidrógeno dentro de un rango de presión adecuado, tal como, por ejemplo, de 0,20 a 0,30 Mpa, en presencia de un catalizador adecuado tal como, por ejemplo, paladio sobre carbono, en un solvente adecuado tal como MeOH;

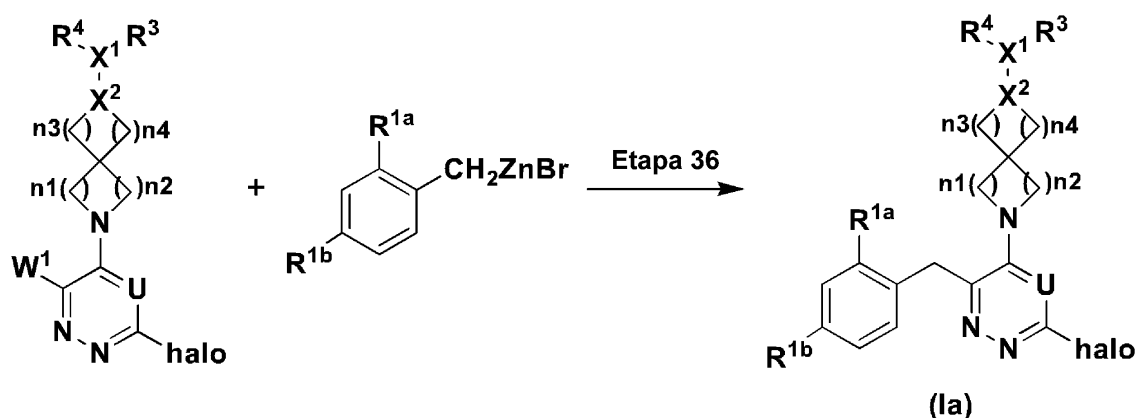
alternativamente, a una temperatura adecuada tal como temperatura ambiente, en  
20 presencia de un catalizador adecuado tal como, por ejemplo, complejo de dicloruro de 1,1'-Bis (difenilfosfino) ferroceno-paladio(II) diclorometano, un agente reductor adecuado tal como borohidruro sódico, una base adecuada tal como, por ejemplo, *N,N,N',N'*-tetrametiletilendiamina, en un solvente adecuado tal como, por ejemplo, tetrahidrofurano.

## Esquema 10

En general, los compuestos de Fórmula (Z) en donde  $Y^1$  se limita a  $-CH_2-$ , y  $R^2$  se limita a  $W^1$ , denominados en la presente descripción compuestos de Fórmula (Ia), pueden prepararse de acuerdo con el siguiente Esquema 10 de reacción. En el

5 Esquema 10,  $W^1$  representa cloro, bromo o yodo; todas las demás variables se definen de acuerdo con el alcance de la presente invención.

Esquema 10



10 En el Esquema 10, se aplican las siguientes condiciones de reacción:

Etapa 36: a una temperatura adecuada se encontraba en el intervalo de 60 °C a 100 °C, en presencia de un catalizador adecuado tal como acetato de paladio ( $Pd(OAc)_2$ ) o tris(dibencilidenoacetona)dipaladio(0) ( $Pd_2(dba)_3$ ) o tetraquis (trifenilfosfina) paladio(0), en un solvente adecuado tal como, por ejemplo, tetrahidrofurano o dioxano.

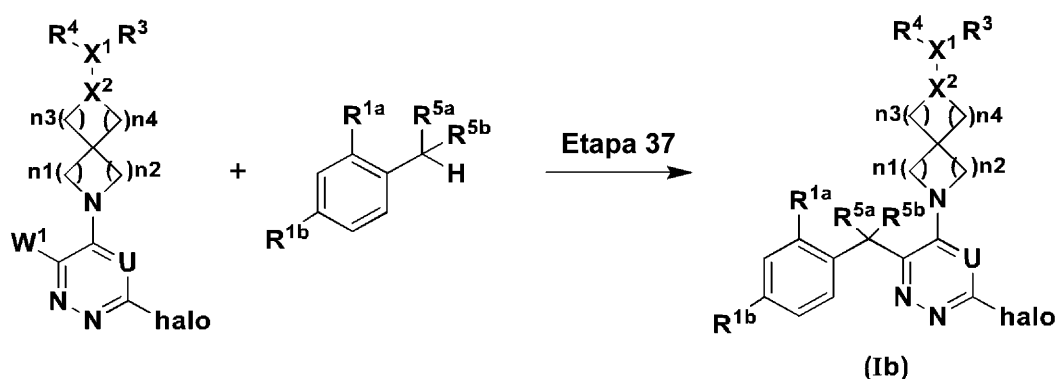
15 El experto en la técnica se dará cuenta que a partir del compuesto (Ia), se pudo realizar la química análoga como se informa en la etapa 10 en el esquema 5 y en las etapas 20, 21 y 22 en el esquema 8.

## Esquema 11

En general, los compuestos de Fórmula (I) en donde  $Y^1$  se limita a  $-CR^{5a}R^{5b}-$  y  $R^2$  se limita a  $W^1$ , denominado en la presente descripción compuestos de Fórmula (Ib), pueden prepararse de acuerdo con el siguiente Esquema 11 de reacción. En el

5 Esquema 11, al menos uno de  $R^{5a}$  y  $R^{5b}$  es distinto de hidrógeno. Todas las demás variables se definen de acuerdo con el alcance de la presente invención.

## Esquema 11



10 En el Esquema 11, se aplica la siguiente condición de reacción:

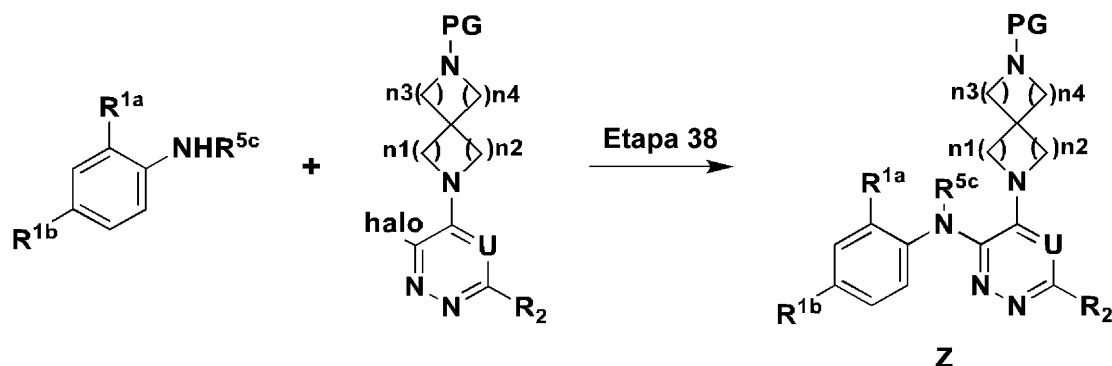
Etapa 37: a una temperatura adecuada se encontraba en el rango de 80 °C a 200 °C, en presencia de un catalizador adecuado tal como acetato de paladio ( $Pd(OAc)_2$ ), en presencia de un ligando adecuado tal como, por ejemplo, trifenilfosfina o triciclohexilfosfina, en un solvente adecuado tal como, por ejemplo, dioxano,

15 preferentemente en condiciones selladas, opcionalmente en irradiación de microondas.

El experto en la técnica se dará cuenta que a partir del compuesto (Ib), se podría realizar una química análoga como se informa en la etapa 10 en el esquema 5 y en las etapas 20, 21 y 22 en el esquema 8.

## Esquema 12

Esquema 12



5 En el Esquema 12, se aplica la siguiente condición de reacción:

Etapa 38: a una temperatura adecuada tal como, por ejemplo, de RT a 80 °C, en presencia de una base adecuada tal como, por ejemplo, DIEA,  $CS_2CO_3$  o DBU, en solvente adecuado tal como por ejemplo DCM, THF o DMF;

Alternativamente, a una temperatura adecuada tal como, por ejemplo, RT a  
 10 100 °C, en presencia de un catalizador adecuado tal como, por ejemplo,  $Pd_2dba_3$ , en presencia de un ligando adecuado tal como por ejemplo Xantphos, en presencia de una base adecuada tal como  $CS_2CO_3$  o  $Na_2CO_3$  en un solvente adecuado tal como dioxano o una mezcla de dioxano y agua.

El experto en la técnica se dará cuenta que a partir de la Intermedio Z, se puede  
 15 realizar la química análoga como se informa en el caso  $Y^1$  representa O.

Se apreciará que cuando existen grupos funcionales adecuados, los compuestos de varias fórmulas o cualquier producto intermedio usado en su preparación pueden derivatizarse además mediante uno o más métodos sintéticos estándar que usan reacciones

de condensación, sustitución, oxidación, reducción o escisión. Los enfoques de sustitución particulares incluyen procedimientos de alquilación, arilación, heteroalación, acilación, sulfonilación, halogenación, nitración, formilación y acoplamiento convencionales.

Los compuestos de la Fórmula (I) pueden sintetizarse en forma de mezclas de  
5 mezclas racémicas de enantiómeros que pueden separarse entre sí que siguen procedimientos de resolución conocidos en la técnica. Los compuestos racémicos de la Fórmula (I) que contienen un átomo de nitrógeno básico pueden convertirse en las formas de sales diastereoméricas correspondientes mediante la reacción con un ácido quiral adecuado. Dichas formas de sales diastereoméricas se separan posteriormente, por  
10 ejemplo, mediante cristalización selectiva o fraccionada y los enantiómeros se liberan de estas mediante álcali. Una manera alternativa de separar las formas enantioméricas de los compuestos de la Fórmula (I) implica cromatografía líquida usando una fase estacionaria quiral. Dichas formas estereoquímicamente isoméricas puras también pueden derivarse de las formas estereoquímicamente isoméricas puras correspondientes de los materiales de  
15 partida adecuados, siempre que la reacción se produzca estereoespecíficamente.

En la preparación de compuestos de Fórmula (I), puede ser necesaria la protección de la funcionalidad remota (p. ej., amina primaria o secundaria) de intermedios. La necesidad de tal protección variará dependiendo de la naturaleza de la funcionalidad remota y las condiciones de los métodos de preparación. Los grupos  
20 amino-protectores adecuados (NH-Pg) incluyen acetilo, trifluoroacetilo, t-butoxicarbonilo (Boc), benciloxicarbonilo (CBz) y 9-fluorenilmetilenooxicarbonilo (Fmoc). Un experto en la técnica determina fácilmente la necesidad de dicha protección. Para una descripción general de los grupos protectores y su uso, ver. W. Greene and P. G. M. Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, 4th ed., Wiley, Hoboken, New Jersey, 2007.

Varios métodos para preparar los compuestos de Fórmula (I) se ilustran en los siguientes ejemplos. A menos que se indique de cualquier otra manera, todos los materiales de partida se obtuvieron de proveedores comerciales y se usaron sin purificación adicional, o alternativamente pueden ser sintetizados por un experto al usar los métodos bien conocidos.

**Tabla 1B-Abreviaturas**

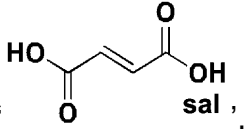
| Abreviatura                     | Significado                                                 |
|---------------------------------|-------------------------------------------------------------|
| Ag(Phen) <sub>2</sub> OTf       | Complejo de triflato de plata-bis(1,10-fenantrolina)        |
| 2-MeTHF                         | 2-metiltetrahidrofurano                                     |
| ACN                             | acetonitrilo                                                |
| AcCl                            | cloruro de acetilo                                          |
| AcOH                            | ácido acético                                               |
| Ac <sub>2</sub> O               | anhídrido acético                                           |
| ac.                             | acuoso                                                      |
| Ar                              | argón                                                       |
| BBr <sub>3</sub>                | tribromoborano                                              |
| bn                              | bencilo                                                     |
| Boc                             | <i>tert</i> -butoxicarbonilo                                |
| Boc <sub>2</sub> O              | dicarbonato de di- <i>tert</i> -butilo                      |
| <i>n</i> -BuLi                  | <i>n</i> -butillitio                                        |
| Cbz                             | benciloxicarbonilo                                          |
| CD <sub>3</sub> OD              | metanol-d <sub>4</sub>                                      |
| CHCl <sub>3</sub>               | cloroformo                                                  |
| Cs <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> | carbonato de cesio                                          |
| conc.                           | concentrado                                                 |
| DBU                             | 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno                          |
| DCC                             | diciclohexilcarbodiimida                                    |
| DCE                             | dicloroetano                                                |
| DCM                             | diclorometano                                               |
| DDQ                             | 4,5-dicloro-3,6-dioxociclohexa-1,4-dieno-1,2-dicarbonitrilo |
| DEA                             | dietilamina                                                 |
| DIBAL-H                         | hidruro de diisobutilaluminio                               |
| DIEA o DIPEA                    | <i>N,N</i> -diisopropiletilamina                            |

| Abreviatura                     | Significado                                                                                                |
|---------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| DMAP                            | N,N-dimetilpiridin-4-amina.                                                                                |
| DMF                             | N,N-dimetilformamida                                                                                       |
| DMP                             | Dess-Martin periodinano                                                                                    |
| DMSO                            | sulfóxido de dimetilo                                                                                      |
| dppf                            | 1,1'-ferrocenediil-bis(difenilfosfina)                                                                     |
| EDCI                            | clorhidrato de N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida                                                |
| EA o EtOAc                      | Acetato de etilo                                                                                           |
| EtOH                            | Etanol                                                                                                     |
| eq.                             | equivalente(s)                                                                                             |
| FA                              | ácido fórmico                                                                                              |
| FCC                             | cromatografía ultrarrápida en columna                                                                      |
| h                               | hora(s)                                                                                                    |
| H <sub>2</sub>                  | hidrógeno                                                                                                  |
| HATU                            | 1-[bis(dimetilamino)metilen]-1 <i>H</i> -1,2,3-triazolo[4,5- <i>b</i> ]piridinio 3-óxido hexafluorofosfato |
| H <sub>2</sub> O                | Agua                                                                                                       |
| HCl                             | ácido clorhídrico                                                                                          |
| HOBt                            | 1-hidroxibenzotriazol                                                                                      |
| HPLC                            | cromatografía en líquido de alto rendimiento                                                               |
| ICH <sub>2</sub> Cl             | cloroyodometano                                                                                            |
| IPA                             | alcohol isopropílico                                                                                       |
| IPAc                            | Acetato de isopropilo                                                                                      |
| K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>  | carbonato de potasio                                                                                       |
| KI                              | yoduro de potasio                                                                                          |
| K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> | fosfato dipotásico                                                                                         |
| K <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>  | fosfato tripotásico                                                                                        |
| LiAlD <sub>4</sub>              | deuteruro de litio y aluminio                                                                              |
| LAH                             | hidruro de litio aluminio                                                                                  |
| LiBH <sub>4</sub>               | borohidruro de litio                                                                                       |
| LDA                             | diisopropilamida de litio                                                                                  |
| LiCl                            | cloruro de litio                                                                                           |
| LG                              | grupo saliente                                                                                             |
| Me                              | metilo                                                                                                     |
| MeOH                            | Metanol                                                                                                    |
| 2-MeTHF                         | 2-metiltetrahidrofurano                                                                                    |
| min.                            | minuto(s)                                                                                                  |
| ml                              | mililitros                                                                                                 |
| mmol                            | milimoles                                                                                                  |
| mg                              | miligramo                                                                                                  |
| MgSO <sub>4</sub>               | sulfato de magnesio                                                                                        |
| MSA                             | ácido metanosulfónico                                                                                      |

| Abreviatura                            | Significado                                                                       |
|----------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|
| <b>MsCl</b>                            | cloruro de metanosulfonilo                                                        |
| <b>Ms</b>                              | tamiz molecular                                                                   |
| <b>MTBE</b>                            | metil terc-butil éter                                                             |
| <b>N<sub>2</sub></b>                   | nitrógeno                                                                         |
| <b>NA*</b>                             | no disponible                                                                     |
| <b>NaBH<sub>3</sub>CN</b>              | cianoborohidruro de sodio                                                         |
| <b>NaBH(OAc)<sub>3</sub></b>           | triacetoxiborohidruro de sodio                                                    |
| <b>NaBD<sub>3</sub>CN</b>              | cianoborodeuteruro de sodio                                                       |
| <b>Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub></b>    | carbonato de sodio                                                                |
| <b>NaH</b>                             | hidruro de sodio                                                                  |
| <b>NaHCO<sub>3</sub></b>               | bicarbonato de sodio                                                              |
| <b>NaI</b>                             | yoduro de sodio                                                                   |
| <b>NaOAc</b>                           | acetato de sodio                                                                  |
| <b>NaOH</b>                            | hidróxido de sodio                                                                |
| <b>Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub></b>    | sulfito de sodio                                                                  |
| <b>Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>    | sulfato de sodio                                                                  |
| <b>NH<sub>4</sub>Cl</b>                | cloruro de amonio                                                                 |
| <b>NMM</b>                             | 1-4-metilmorfolina                                                                |
| <b>Pd<sub>2</sub>dba<sub>3</sub></b>   | tris(dibencilideneacetona)dipaladio(0)                                            |
| <b>Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>·DCM</b>      | [1,1'-bis(difenilfosfina)ferroceno]dicloropaladio(II), complejo con diclorometano |
| <b>Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub></b> | tetraquis(trifenilfosfina)paladio(0)                                              |
| <b>PE</b>                              | éter de petróleo                                                                  |
| <b>PG</b>                              | grupo protector                                                                   |
| <b>Phen</b>                            | fenantrolina                                                                      |
| <b>psi</b>                             | libra por pulgada cuadrada                                                        |
| <b><i>p</i>-TsOH</b>                   | ácido <i>p</i> -toluenosulfónico                                                  |
| <b><i>p</i>-TsOH·H<sub>2</sub>O</b>    | monohidrato de ácido <i>p</i> -toluenosulfónico                                   |
| <b>R<sub>t</sub></b>                   | tiempo de retención                                                               |
| <b>sal de Rochelle</b>                 | tetrahidrato de tartrato de potasio y sodio                                       |
| <b>TA</b>                              | temperatura ambiente                                                              |
| <b>sat.</b>                            | saturado                                                                          |
| <b>SFC</b>                             | Cromatografía de fluido supercrítico                                              |
| <b>TBAF</b>                            | fluoruro de tetrabutilamonio                                                      |
| <b>TBDMS</b>                           | terc-butildimetilsililo                                                           |
| <b>TBDPS</b>                           | terc-butildifenilsililo                                                           |
| <b><i>t</i>-BuOK</b>                   | terc-butóxido de potasio                                                          |
| <b>TEA</b>                             | triethylamina                                                                     |
| <b>Tf</b>                              | trifluorometanosulfonilo                                                          |
| <b>TFA</b>                             | ácido trifluoroacético                                                            |
| <b>THF</b>                             | tetrahidrofurano                                                                  |

| Abreviatura           | Significado                                |
|-----------------------|--------------------------------------------|
| Ti(OiPr) <sub>4</sub> | isopropóxido de titanio(IV)                |
| TLC                   | cromatografía de capa fina                 |
| TMEDA                 | <i>N,N,N,N</i> -tetrametiletilendiamina    |
| TMG                   | 1,1,3,3-tetrametilguanidina                |
| TMSi                  | yodotrimetilsilano                         |
| Ts                    | <i>p</i> -toluenosulfonilo                 |
| TsCl                  | cloruro de <i>p</i> -toluenosulfonilo      |
| v/v                   | volumen por volumen                        |
| vol.                  | volumen(es)                                |
| wt                    | peso                                       |
| Xantphos              | 4,5-bis(difenilfosfino)-9,9-dimetilxanteno |

Como lo entenderá un experto en la técnica, los compuestos sintetizados usando los protocolos indicados pueden existir como un solvato, p. ej., hidrato, y/o contener solvente residual o impurezas menores. Los compuestos o intermedios aislados en forma de sal pueden ser estequiométricos enteros, es decir, monosales o disales, o de estequiometría intermedia. Cuando un intermedio o compuesto en la parte experimental a continuación se indica como ‘sal de HCl’ sin indicación del número de equivalentes de HCl, esto significa que no se determinó el número de equivalentes de HCl. El mismo principio también se aplicará a todas las demás formas de sal mencionadas en la parte

experimental, tal como, p. ej., “sal de oxalato”, “sal de formiato” o ‘’,

Un experto se dará cuenta que, incluso cuando no se mencione explícitamente en los protocolos experimentales más abajo, típicamente, después de una purificación por cromatografía de columna, se recolectaron las fracciones deseadas y se evaporó el solvente.

En caso de que no se indique ninguna estereoquímica, esto significa que es una mezcla de estereoisómeros, a menos que se indique de cualquier otra manera o que esté claro en el contexto.

Cuando se indica un estereocentro con 'RS' esto significa que se obtuvo una  
5 mezcla racémica en el centro indicado, a menos que se indique de cualquier otra manera.

**Ejemplo 1 – Síntesis de (R)-N-etil-5-fluoro-N-isopropil-2-((5-(2-(6-((2-metoxietil)(metil)amino)-2-metilhexan-3-il)-2,6-diazaspiro[3.4]octan-6-il)-1,2,4-triazin-6-il) oxi) benzamida (Compuesto A) – Método de preparación A**

10

*Preparación del Intermedio 1- (5-metil-4-oxohexil) carbamato de terc-butilo.*

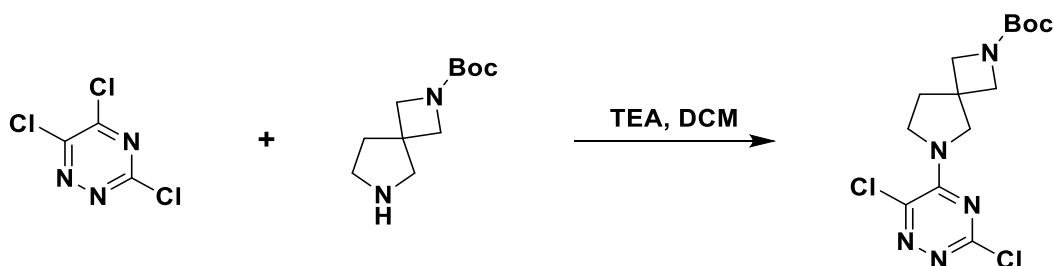


15 A una solución de 2-oxopirrolidin-1 carboxilato de *terc*-butilo (5,0 g, 27 mmol) y TMEDA (5,0 ml, 33 mmol) en THF (60 ml) enfriada a -70 °C se añadió lentamente solución de bromuro de isopropilmagnesio (19 ml, 55 mmol, 2,9 M en 2-metiltetrahidrofurano), la mezcla resultante se calentó lentamente a RT y se agitó durante 12 h. La mezcla se vertió en solución ac. sat. NH<sub>4</sub>Cl (50 ml) y se extrajo con  
20 EtOAc (50 ml × 3). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtraron y se concentraron bajo presión reducida para dar el producto crudo, que se

purificó mediante FCC (PE/EtOAc = 1:0 to 100:1) para proporcionar el intermedio del título (3,7 g, 60 % de rendimiento) como un aceite amarillo.

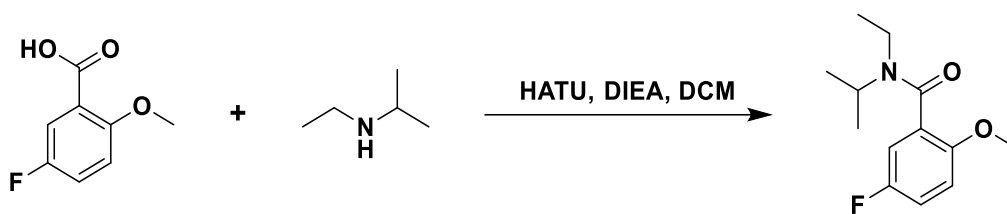
*Preparación del Intermedio 13- 6-(3,6-dicloro-1,2,4-triazin-5-il)-2,6-diazaspiro[3.4]*

5 *octano-2-carboxilato de terc-butilo*



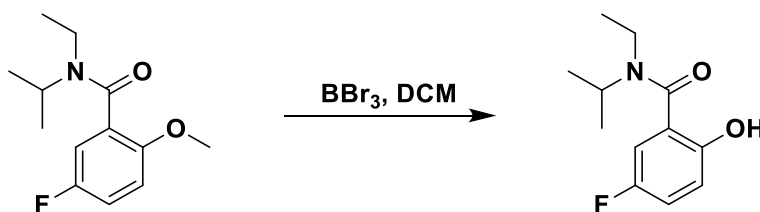
A la solución de 3,5,6-tricloro-1,2,4-triazina (10,0 g, 54,2 mmol) y TEA (15,2 ml, 109 mmol) en DCM (100 ml) enfriada a 0 °C se le añadió 2,6-diazaspiro [3.4] octano-2-carboxilato de *terc* -butilo (9,21 g, 43,4 mmol), la mezcla se calentó a RT y se agitó durante 1 h. La mezcla se diluyó con agua (20 ml) y se extrajo con DCM (30 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron y se concentraron a presión reducida para dar el producto crudo, que se purificó por FCC en gel de sílice (PE/EtOAc = 1:0 to 3:1) para proporcionar el intermedio (12,0 g, 58 % de rendimiento) como un sólido amarillo.

*Preparación del Intermedio 27 - N-etil-5-fluoro-N-isopropil-2-metoxibenzamida*



A la mezcla de ácido 5-fluoro-2-metoxibenzoico (8,00 g, 47,0 mmol) y *N*-etilpropan-2-amina (8,19 g, 94,0 mmol) en DCM seco (150 ml) enfriada a 0 °C, se añadieron lentamente HATU (21,5 g, 56,5 mmol) y DIEA (9,10 g, 70,4 mmol) en porciones. La mezcla resultante se calentó lentamente hasta RT y se agitó durante 8 h. La capa orgánica se lavó con agua (20 ml x 3) y se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro. Después de la filtración, el solvente se eliminó a presión reducida y el producto crudo se purificó mediante FCC (EtOAc/PE = 0 % a 20 %) para proporcionar el intermedio del título (12,0 g, 96 % de rendimiento) como un sólido blanco.

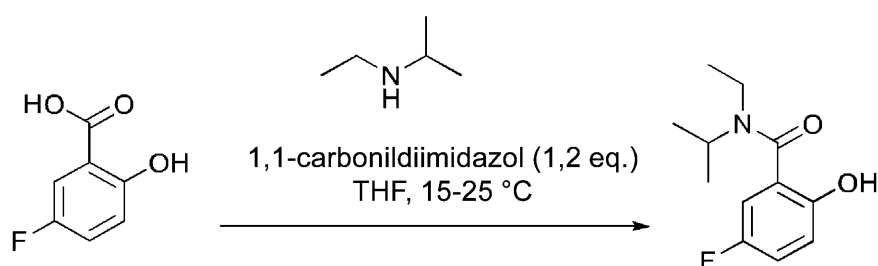
#### *Preparación del Intermedio 28 - N-etil-5-fluoro-2-hidroxi-N-isopropilbenzamida*



A la solución de *N*-etil-5-fluoro-*N*-isopropil-2-metoxibenzamida (Intermedio 27) (12,0 g, 50,1 mmol) en DCM seco (100 ml) enfriada a -78 °C se añadió lentamente BBr<sub>3</sub> (14,4 ml, 152 mmol), la mezcla resultante se calentó lentamente a RT y se agitó durante 8 h. La mezcla se enfrió nuevamente a -78 °C y se añadió MeOH (5 ml) gota a gota

para inactivar la reacción. La mezcla resultante se calentó lentamente a RT y el valor de pH se ajustó a aproximadamente 8 añadiendo sat. ac. de  $\text{NaHCO}_3$ . La capa acuosa se extrajo con DCM (50 ml x 3) y las capas orgánicas combinadas se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para dar el producto  
 5 crudo que se purificó mediante FCC ( $\text{EtOAc/PE} = 0\% \text{ a } 20\%$ ) para proporcionar el intermedio del título (9,0 g, 78 % de rendimiento) como un sólido blanco.

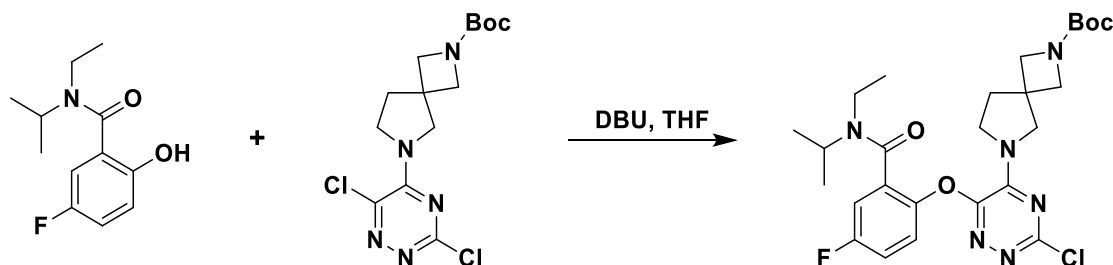
### *Preparación alternativa del Intermedio 28*



Una mezcla de ácido 5-fluoro-2-hidroxi-benzoico (14,0 kg, 89,68 mol, 1,0 equiv.) en THF (168 L, 12 volúmenes) se ajustó a entre 15-25 °C y se añadió 1,1-carbonaldiimidazol, (17,45 kg, 107,62 mol, 1,2 equiv) durante un período de 1 hora. Después de la adición, la  
 15 mezcla se agitó durante 18 horas a 15-25 °C. Después de este tiempo, se añadió N-etilpropan-2-amina (14,85 kg, 170,39 mol, 1,9 equiv) a la mezcla a 15-25 °C durante un período de 2 horas. La mezcla resultante se envejeció adicionalmente durante 18-24 horas a 15-25 °C. El pH se ajustó a entre pH 4-5 con ac. 10 %  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (140 kg, 10 volúmenes) y las capas se separaron. La fase orgánica se concentró a entre 42-56 l, manteniendo una  
 20 temperatura por debajo de 40 °C, y después se añadió n-heptano (43 kg, 4,5 volúmenes)

a la mezcla a 15-25 °C durante un período de 3 horas. La mezcla se enfrió después a 0-10 °C y se agitó durante 6 horas adicionales. La suspensión resultante se filtró y la torta se lavó con una mezcla de terc-butil metil éter (MTBE):n-heptano (25 kg de una mezcla de volumen/volumen 2:3 de MTBE:n-heptano, 2,5 volúmenes). El lavado de la torta se repitió dos veces más y el sólido resultante se secó al vacío a 50 °C para proporcionar el Intermedio 28 (16,5 kg, pureza: 99,1 %, rendimiento: 80,4 %).

*Preparación del Intermedio 14 - 6-(3-cloro-6-(2-(etil(isopropil)carbamoil-4-fluorofenoxi)-1,2,4-triazin-5-il)-2,6-diazaspiro[3.4]octano-2-carboxilato de terc-butilo*

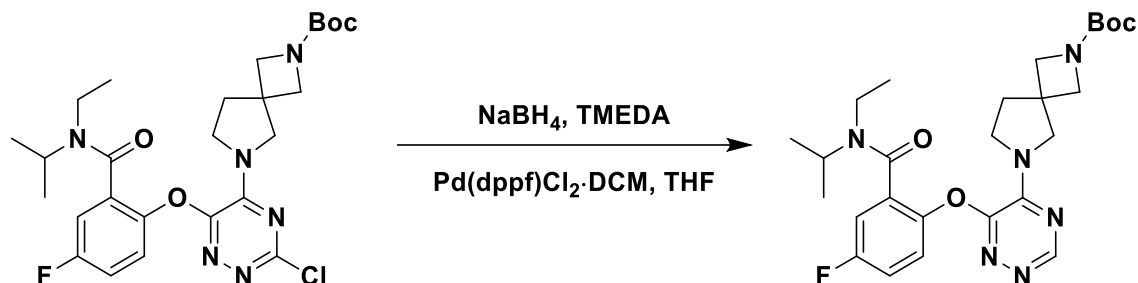


La mezcla de 6-(3,6-dicloro-1,2,4-triazin-5-il) -2,6-diazaspiro [3.4] octano-2-carboxilato de *terc*-butilo (intermedio **13**) (12,0 g, 33,3 mmol), *N*-etil-5-fluoro-2-hidroxii-*N*-isopropilbenzamida (intermedio **28**) (7,5 g, 33,3 mmol) y DBU (6,1 g, 40,1 mmol) en THF (120 ml) se agitó a 25 °C durante 8 h. La mezcla se diluyó con agua (30 ml) y se extrajo con DCM (30 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron y se concentraron bajo presión reducida para dar el producto crudo, que se purificó mediante FCC (PE/EtOAc = 1:0 to 3:1) para producir el intermedio del título (14,0 g, 73 %) como un sólido verde.

*Preparación del Intermedio 2 - 6-(6-(2-(etil(isopropil)carbamoil)-4-fluoro-fenoxi) -1,2,4-triazin-5-il)-2,6-diazaspiro[3,4]octano-2-carboxilato de terc-butilo*

Método de síntesis A para el Intermedio 2:

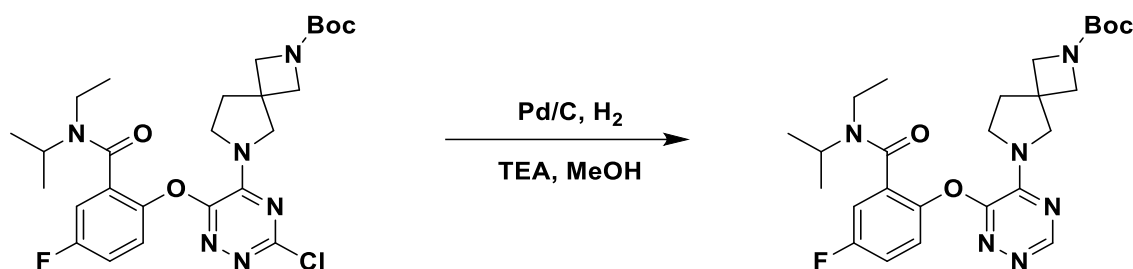
5



A la mezcla de 6-(3-cloro-6-(2 (etil (isopropil)carbamoil)-4-fluorofenoxi) -1,2,4-triazin-5-il)-2,6-diazaspiro[3,4] octano-2-carboxilato de terc-butilo (Intermedio **14**) (20 g, 36,4 mmol),  
 10 NaBH<sub>4</sub>(2,48 g, 65,7 mmol) y TMEDA (8,54 g, 73,5 mmol) en THF (500 ml) se añadió Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>·DCM (1,70 g, 2,08 mmol) bajo atmósfera de N<sub>2</sub>. Después de la adición, la mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 14 h. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró, el residuo se purificó mediante FCC sobre gel de sílice (EtOAc) para proporcionar el intermedio del título (15 g, 93 % de pureza, 74 % de rendimiento) como un sólido marrón.

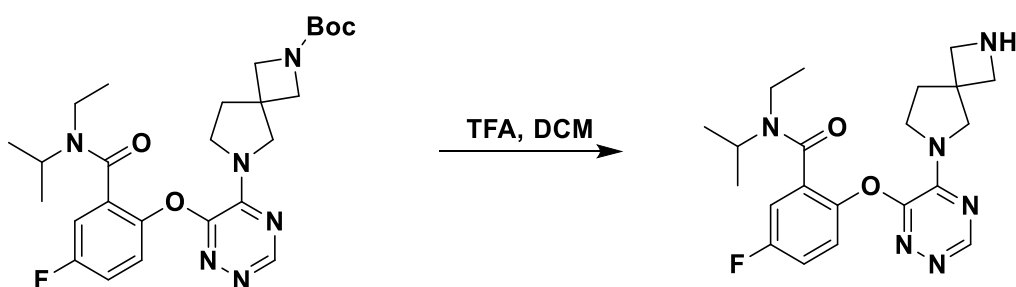
15

*Método de síntesis B para el Intermedio 2:*



A la disolución de 6-(3-cloro-6-(2-(etil(isopropil)carbamoil)-4-fluorofenoxi)-1,2,4-triazin-5-il)-2,6-diazaspiro[3,4]octano-2-carboxilato de *terc*-butilo (intermedio **14**) (22,0 g, 40,1 mmol), TEA (15 ml) en MeOH (100 ml) se añadió Pd/C (húmedo, 5,0 g, 10 %). La mezcla resultante se agitó bajo atmósfera de H<sub>2</sub> (30 psi) a 25 °C durante 8 h. La mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celita y el filtrado se concentró *in vacuo* para proporcionar el intermedio del título (25,0 g, crudo), que se usó directamente en la etapa siguiente sin purificación adicional.

Preparación del Intermedio 3 - 2-(5-(2,6-diazaspiro[3.4]octan-6-il)-1,2,4-triazin-6-il)oxi)-N-etil-5-fluoro-N-isopropilbenzamida

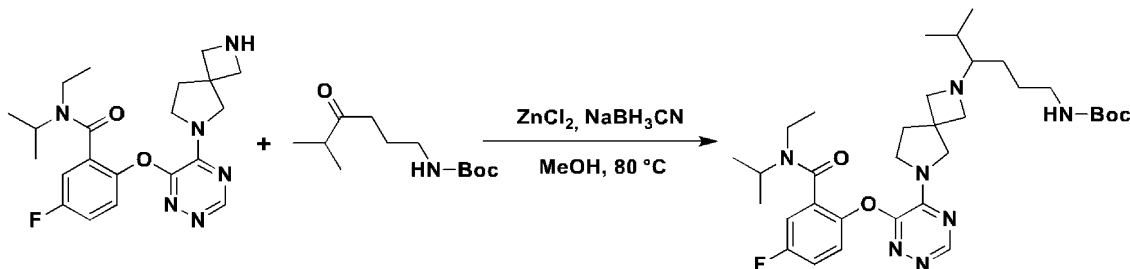


A la solución de 6-(6-(2(etil(isopropil)carbamoil)-4-fluorofenoxi)-1,2,4-triazin-5-il)-2,6-diazaspiro [3.4] octano-2-carboxilato de *terc*-butilo (Intermedio 2) (300 mg,

0,583 mmol) en DCM (5 ml) se le añadió TFA (0,5 ml, 6,4 mmol), la mezcla resultante se agitó a RT durante 3 h. Después, se añadió lentamente una solución de NaOH al 10 % (5 ml) a la mezcla para ajustar el valor de pH a aproximadamente 12, la mezcla resultante se extrajo con DCM (10 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtraron y se concentraron in vacuo para producir el intermedio del título (220 mg, 90 % de rendimiento) como un sólido blanco.

*Preparación del Compuesto 61 - (4-(6-(6-(2-(etil(isopropil)carbamoil)-4-fluorofenoxi)-1,2,4-triazin-5-il)-2,6-diazaspiro[3.4]octan-2-il)-5-metilhexil)carbamato de terc-butilo*

10

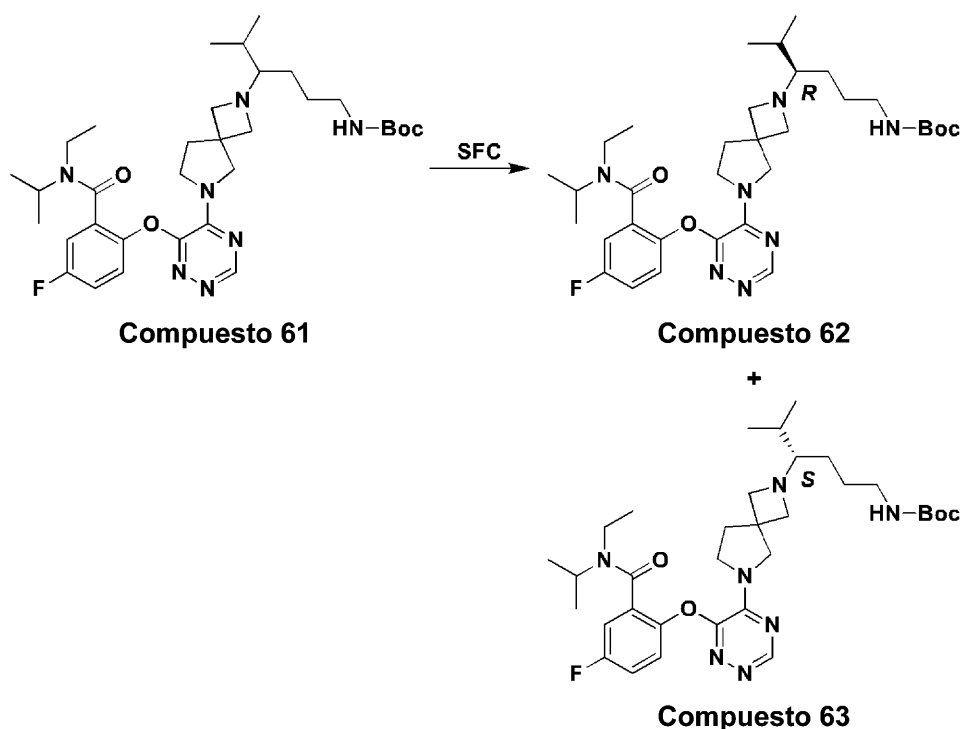


La mezcla 2-(5-(2,6-diazaspiro[3.4]octan-6-il)-1,2,4-triazin-6-il) oxi)-N-etil-5-fluoro-N-isopropilbenzamida (Intermedio 3) (1,0 g, 2,4 mmol), (5-metil-4-oxohexil) carbamato de terc-butilo (Intermedio 1) (830 mg, 3,62 mmol) y ZnCl<sub>2</sub> (660 mg, 4,84 mmol) en MeOH (15 ml) se agitó a 80 °C durante 0,5 horas. Después, NaBH<sub>3</sub>CN (310 mg, 4,93 mmol) se añadió y la mezcla resultante se agitó a 80 °C durante 6 h. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla se concentró a presión reducida para dar el producto crudo, que se purificó adicionalmente mediante HPLC preparativa usando un Waters Xbridge Prep OBD (columna: C18 150 x 40 mm 10 um; eluyente:

20

ACN/H<sub>2</sub>O (0,05 % de amoníaco) de 45 % a 75 % v/v) para proporcionar el compuesto del título (700 mg, 46 % de rendimiento) como aceite incoloro.

Preparación de los Compuestos 62 y 63 - (R)-(4-(6-(6-(2 (etil(isopropil)carbamoil)-4-fluorofenoxi) -1,2,4-triazin-5-il) -2,6-diazaspiro [3.4] octan-2-il) -5-metilhexil) carbamato de terc-butilo y (S)-(4-(6-(6-(2 (etil(isopropil)carbamoil)-4-fluorofenoxi)-1,2,4-triazin-5-il)-2,6-diazaspiro [3.4] octan-2-il)-5-metilhexil) carbamato de terc-butilo



10

(4-(6-(6-(2 (etil(isopropil)carbamoil)-4-fluorofenoxi)-1,2,4-triazin-5-il) -2,6-diazaspiro [3.4] octan-2-il) -5-metilhexil) carbamato de terc-butilo (compuesto **61**) (200 mg, 0,319 mmol) se purificó mediante SFC sobre DAICEL CHIRALPAK IG (columna: 250 x 30 mm 10 um; elución isocrática: EtOH (que contiene 0,1 % de

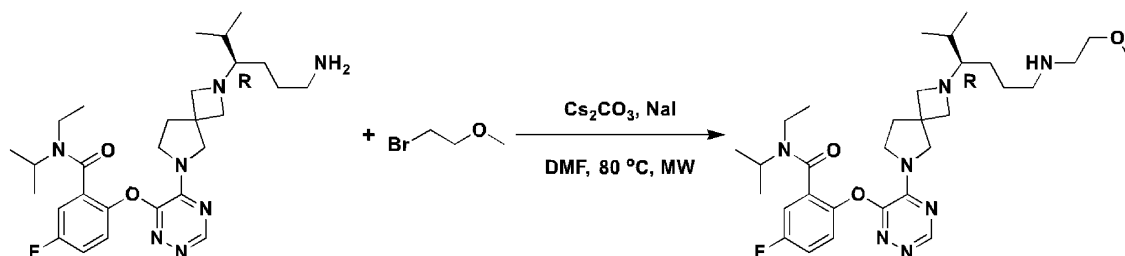
amoníaco al 25 %): CO<sub>2</sub> supercrítico, 40 % : 60 % (v/v)) para proporcionar los compuestos del título (Compuesto **62**) (85 mg, 42 % de rendimiento) y (Compuesto **63**) (80 mg, 40 % de rendimiento) tanto como aceite amarillo claro.

- 5    *Compuesto 64 - (R)-2-(5-(2- (6-amino-2-metilhexan-3-il)-2,6-diazaspiro[3.4]octan-6-il)-1,2,4-triazin-6-il)oxi) -N-etil-5-fluoro-N-isopropilbenzamida*



- 10        A la solución de (*R*)-4-(6-(6-(2 (etil(isopropil)carbamoil)-4-fluorofenoxi) -1,2,4-triazin-5-il)-2,6-diazaspiro [3.4] octan-2-il)-5-metilhexil) carbamato de *terc*-butilo (Compuesto **62**) (550 mg, 0,876 mmol) en DCM (4 ml) se añadió lentamente TFA (4 ml), y la mezcla resultante se agitó a 25 °C durante 1 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para dar un residuo. El residuo se diluyó en DCM (40 ml) y el valor del pH se ajustó
- 15    a aproximadamente 12 por solución ac. de NaOH (2 M, 16 ml). La capa acuosa se extrajo con DCM (10 ml x 2). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtraron y concentraron in vacuo para dar el compuesto del título (460 mg, crudo) como un sólido amarillo, que se usó directamente en la etapa siguiente sin purificación adicional.

Compuesto 11 - (R)-N-etil-5-fluoro-N-isopropil-2-(5-(2-(6-(2-metoxietil)amino)-2-metilhexan-3-il)-2,6-diazaspiro[3.4]octan-6-il)-1,2,4-triazin-6-il)oxi) benzamida

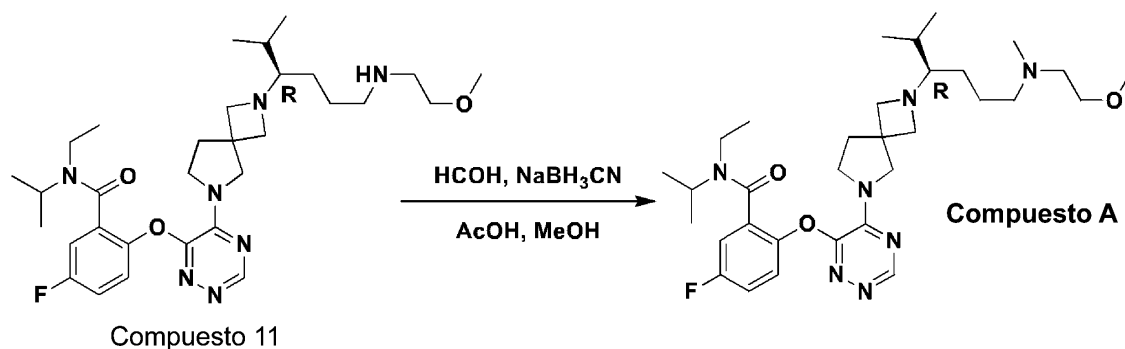


5

La mezcla de (R)-2-(5-(2-(6-amino-2-metilhexan-3-il)-2,6-diazaspiro[3.4]octan-6-il)-1,2,4-triazin-6-il)oxi)-N-etil-5-fluoro-N-isopropilbenzamida (Compuesto **64**) (120 mg, crudo), 1-bromo-2-metoxietano (32 mg, 0,23 mmol), Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (222 mg, 0,681 mmol), NaI (102 mg, 0,680 mmol) en DMF (1 ml) se agitó a 80 °C a través de irradiación de microondas durante 1 h. Después de enfriar a RT, la mezcla se diluyó con H<sub>2</sub>O (10 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 10 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con H<sub>2</sub>O (10 ml), se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para dar el producto crudo, que se purificó adicionalmente por HPLC sobre Phenomenex Gemini-NX (columna: 150 x 30 mm 5 µm; eluyente: ACN/H<sub>2</sub>O (10 mM NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>) de 51 % a 71 % (v/v) y se purificó adicionalmente mediante SFC sobre DAICEL CHIRALCEL OD-H (columna: 250x30 mm 5 µm; eluyente: CO<sub>2</sub> supercrítico en EtOH (0,1 % v/v de amoníaco) 25/25, v/v) para proporcionar el compuesto del título (5,13 mg, 96 % de pureza) como un sólido amarillo.

**LC-MS (ESI) (Método 1):** R<sub>t</sub> = 2,997 min, m/z encontrado 586,3 [M+H]<sup>+</sup>.

Compuesto A- (R)-N-etil-5-fluoro-N-isopropil-2-(5-(2-(6-(2-metoxietil)(metil) amino) -2-metilhexan-3-il)-2,6-diazaspiro[3.4]octan-6-il)-1,2,4-triazin-6-il) oxi) benzamida



5

La mezcla de (R)-N-etil-5-fluoro-N-isopropil-2-(5-(2-(6-(2-metoxietil)amino) -2-metilhexan-3-il)-2,6-diazaspiro[3.4]octan-6-il)-1,2,4-triazin-6-il) oxi) benzamida (compuesto **11**) (40,0 mg, 0,068 mmol), formaldehído (55,4 mg, 0,683 mol, 37 % en agua) y AcOH (8,2 mg, 0,137 mmol) en MeOH anhidro (2 ml) se agitó a 45 °C durante 1 h. Después, se añadió NaBH<sub>3</sub>CN (8,6 mg, 0,137 mmol) a la mezcla y la mezcla resultante se agitó a 45 °C durante otras 1 h. Después de enfriar a RT, la mezcla de reacción se trató con NaHCO<sub>3</sub> sat. ac. (40 ml) para ajustar el valor de pH a aproximadamente 8 y se extrajo adicionalmente con DCM (20 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtraron y concentraron bajo presión reducida para producir el producto crudo que se purificó por HPLC preparativa sobre Boston Prime (columna: C18 150 x 30 mm 5 um, fase móvil A: H<sub>2</sub>O (0,04 % de amoníaco + 10 mM NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>), fase móvil B: ACN, velocidad de flujo: 25 ml/min, condición de gradiente B/A de 50 % a 80 % (50 % B a 80 % B) para proporcionar el compuesto del título (9,62 mg, 99,10 % de pureza, 23,3 % de rendimiento) como aceite amarillo.

**Ejemplo 2 – Síntesis de (R)-N-etil-5-fluoro-N -isopropil-2-((5-(2 (6-((2-metoxietil)(metil)amino) -2-metilhexan-3-il)-2,6-diazaspiro[3.4]octan-6-il)-1,2,4-triazin-6-il) oxi) benzamida (Compuesto A) – Método de preparación B**

5 *Preparación del Intermedio 7 - ácido 4-((terc-butoxicarbonil)(metil)amino)butanoico*



A una solución de clorhidrato de ácido 4-(metilamino)butanoico (3,0 g, 19,5 mmol) y TEA (7,78 ml, 58,6 mmol) en MeOH (30 ml) se le añadió Boc<sub>2</sub>O (4,69 g, 21,5 mmol) gota a gota. La mezcla se agitó a RT durante 2 h. La mezcla se concentró a presión reducida y el residuo se diluyó con EtOAc (100 ml), se lavó con HCl 0,1 N enfriado (70 ml x 2), H<sub>2</sub>O (50 ml x 2) y salmuera (50 ml), se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró para proporcionar el intermedio del título (1,80 g, crudo) como un aceite incoloro.

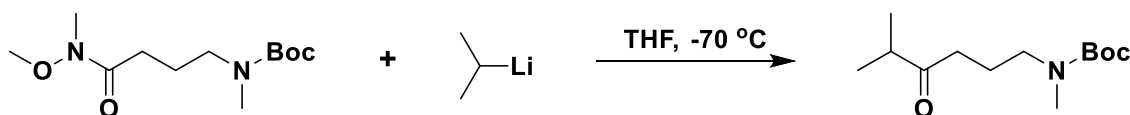
15 *Preparación del Intermedio 8 -(4-(metoxi(metil)amino)-4-oxobutil)(metil)carbamato de terc-butilo*



20 A una solución de ácido 4-((terc-butoxicarbonil) (metil) amino) butanoico (**Intermedio 7**) (1,80 g, crudo) en CHCl<sub>3</sub> (30 ml) se añadió clorhidrato de N,O-dimetilhidroxilamina

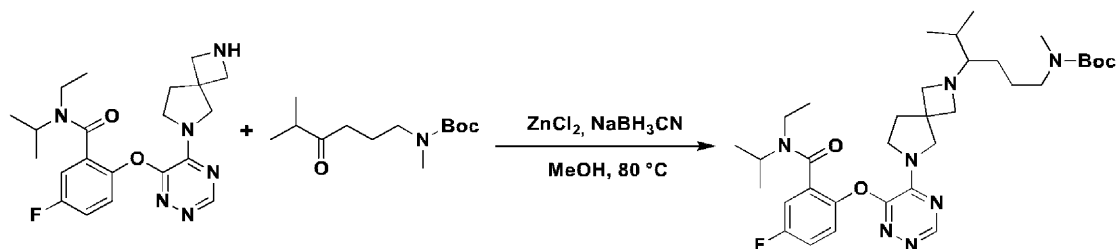
(960 mg, 9,84 mmol), HOBt (1,24 g, 9,18 mmol) y NMM (2,80 ml, 25,1 mmol). Y, después se añadió EDCI (2,23 g, 11,6 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a RT durante 4 h. La mezcla de reacción se diluyó con DCM (100 ml), se lavó con HCl 1N (30 ml x 3), NaHCO<sub>3</sub> ac. sat. (30 ml x 3) y salmuera (30 ml), se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró *in vacuo* para proporcionar el intermedio del título (1,70 g, crudo) como aceite incoloro.

*Preparación del Intermedio 9 - Carbamato de terc-butilmetilo (5-metil-4-oxohexil)*



A una solución de (4-(metoxi (metil)amino)-4-oxobutil)(metil)carbamato de *terc*-butilo (**Intermedio 8**) (200 mg, crudo) en THF (5 ml) enfriada a -70 °C bajo atmósfera de N<sub>2</sub> se le añadió gota a gota isopropillitio (3,2 ml, 2,24 mmol, 0,7 M en pentano). La mezcla resultante se agitó a -70 °C durante 2 h. La mezcla de reacción se inactivó con NH<sub>4</sub>Cl sat. ac. (15 ml) y se extrajo con EtOAc (30 ml x 2). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (30 ml), se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron y se concentraron a presión reducida para dar un producto crudo. El producto crudo se purificó adicionalmente mediante FCC (PE/EtOAc = 10:1) para proporcionar el intermedio del título (60 mg) como aceite incoloro.

*Preparación del Compuesto 60 - (4-(6-(6-(2-(etil(isopropil (isopropil)carbamoil)-4-fluorofenoxi)-1,2,4-triazin-5-il)-2,6-diazaspiro [3.4] octan-2-il)-5-metilhexil)(metil) carbamato de terc-butilo*

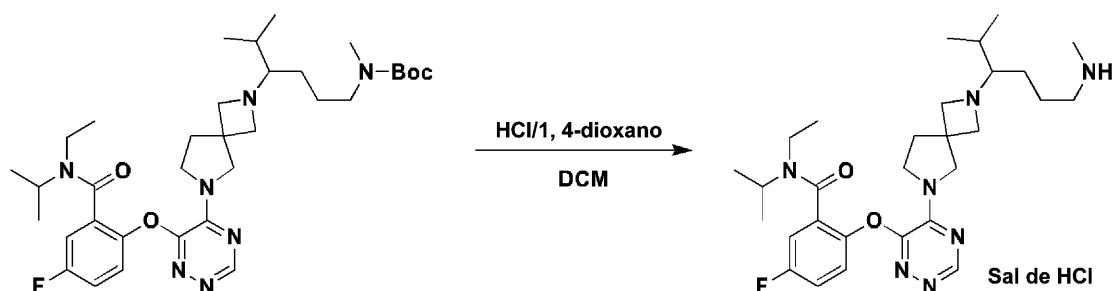


5

A una solución de 2-(5-(2,6-diazaspiro[3.4]octan-6-il)-1,2,4-triazin-6-il) oxi)-*N*-etil-5-fluoro-*N*-isopropilbenzamida (Intermedio 3) (600 mg, 1,45 mmol) y metil (5-metil-4-oxohexil) carbamato de *terc*-butilo (Intermedio 9) (330 mg, 1,37 mmol) en MeOH (50 ml) se le añadió ZnCl<sub>2</sub> (789 mg, 5,79 mmol). La mezcla resultante se agitó a 80 °C durante 2 h. Se añadió NaBH<sub>3</sub>CN (729 mg, 11,6 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a 80 °C durante la noche. Después de enfriar hasta RT, la mezcla se concentró a presión reducida para dar un residuo crudo, que se diluyó con DCM (50 ml), se inactivó con NH<sub>4</sub>Cl sat. ac. (50 ml) y se extrajo con DCM (50 ml × 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (50 ml), se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron y el filtrado se concentró bajo presión reducida para proporcionar un producto crudo, que se purificó adicionalmente mediante FCC (DCM/MeOH = 10:1) para proporcionar el compuesto del título (400 mg, 42 % de rendimiento) como un sólido blanco.

15

Compuesto 67 - Clorhidrato de *N*-etil-5-fluoro-*N*-isopropil-2-(5-(2-(2-metil-6-(metilamino) hexan-3-il)-2,6-diazaspiro[3.4]octan-6-il)-1,2,4-triazin-6-il) oxi) benzamida



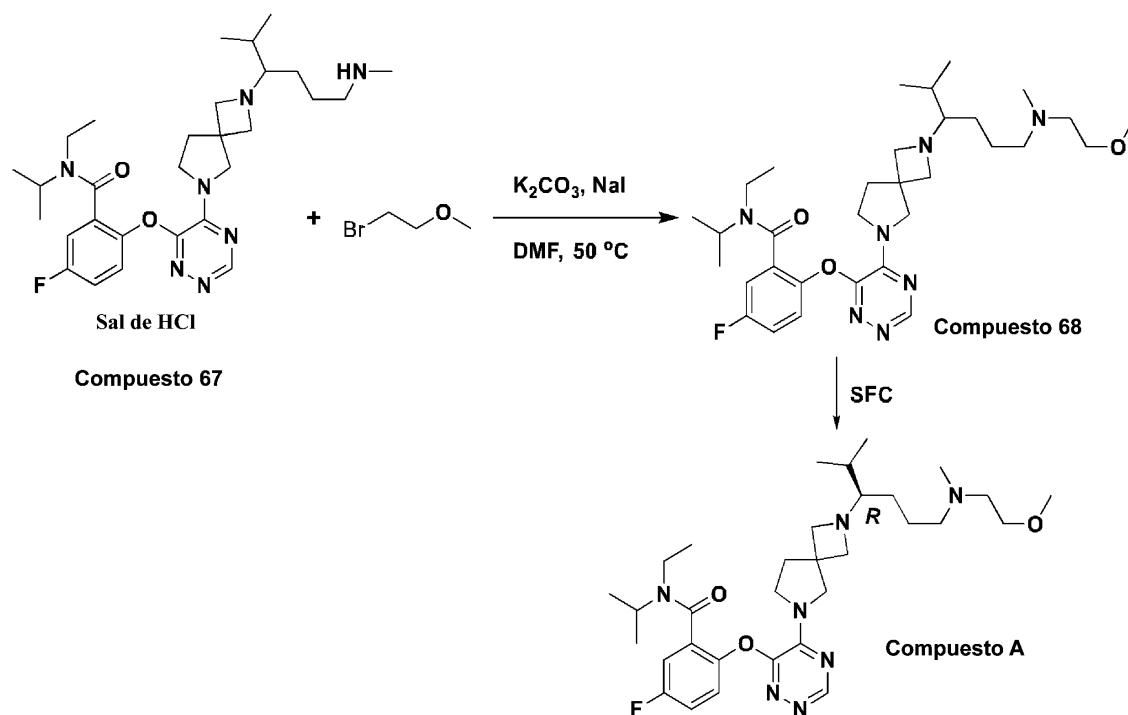
5

A una solución de (4-(6-(6-(2 (etil(isopropil)carbamoil)-4-fluorofenoxi)-1,2,4-triazin-5-il) -2,6-diazaspiro [3.4] octan-2-il) -5-metilhexil)(metil) carbamato de *terc*-butilo (Compuesto **60**) (1 g, 1,56 mmol) en DCM (10 ml) se añadió HCl 4 M en dioxano (5 ml, 20 mmol), la mezcla resultante se agitó a RT durante 1 h. La mezcla de reacción se

10 concentró *in vacuo* para proporcionar el compuesto del título (960 mg, crudo, sal de HCl) que se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Compuesto A - (*R*)-*N*-etil-5-fluoro-*N*-isopropil-2-(5-(2-(6-(2-metoxietil) (metil) amino)-2-metilhexan-3-il)-2,6-diazaspiro[3.4]octan-6-il)-1,2,4-triazin-6-il) oxi) benzamida

15



A la mezcla de clorhidrato de N-etil-5-fluoro-N-isopropil- 2-(5 (2-(2-metil-6-  
(metilamino) hexan-3-il) -2,6-diazaspiro[3.4]octan-6-il)-1,2,4-triazin-6-il) oxi) benzamida  
5 (Compuesto **67**) (480 mg, bruto), K<sub>2</sub>GC<sub>3</sub> (700 mg, 5,07 mmol) y NaI (400 mg, 2,67 mmol)  
en DMF (5 ml) se le añadió 1-bromo-2-metoxietano (230 mg, 1,65 mmol). La mezcla  
resultante se agitó a 50 °C durante la noche. Después de enfriar a RT, la mezcla de  
reacción se inactivó con H<sub>2</sub>O (30 ml) y se extrajo con DCM (30 ml x 3). Las capas  
orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (30 ml x 3), se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>,  
10 se filtraron, y se concentraron para dar un residuo crudo. El residuo se purificó mediante  
FCC (DCM/MeOH = 10:1) para obtener N-etil-5-fluoro-N-isopropil-2-((5-(2-(6-((2-  
metoxietil)(metil) amino) -2-metilhexan-3-il)-2,6-diazaspiro[3.4]octan-6-il)-1,2,4-triazin-6-  
il) oxi) benzamida (Compuesto **68**) (250 mg, 48 % de rendimiento) como aceite amarillo.

La *N*-etil-5-fluoro-*N*-isopropil-2-((5-(2-(6-((2-metoxietil)(metil)amino)-2-metilhexan-3-il)-2,6-diazaspiro[3.4]octan-6-il)-1,2,4-triazin-6-il)oxi)benzamida (compuesto **68**) (960 mg, combinados de varios lotes obtenidos por el método B) se separó primero mediante SFC usando DAICEL CHIRALPAK IG (columna: 250x30 mm 10um; fase móvil: A: CO<sub>2</sub> supercrítico, B: EtOH (0,1 % de amoníaco), A:B= 40:60 a 60 ml/min) y se purificó adicionalmente por HPLC preparativa usando Boston Prime (columna: 150x30 mm 5 um, fase móvil A: H<sub>2</sub>O (10 mM NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>), fase móvil B: ACN, velocidad de flujo: 25 ml/min, condición de gradiente B/A de 55 % a 85 %) para proporcionar el compuesto del título (270 mg) como aceite incoloro.

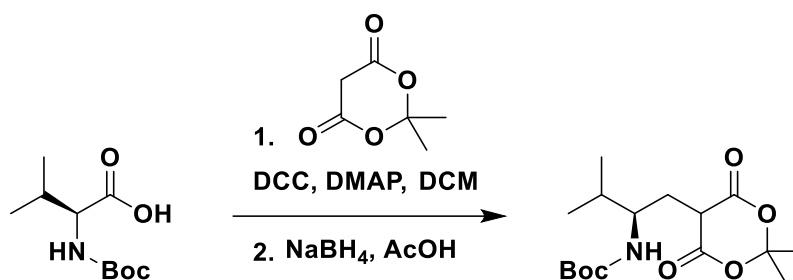
**<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, metanol-*d*<sub>4</sub>):**  $\delta$  = 8,40 (s, 1H), 7,47-7,32 (m, 1H), 7,30-7,10 (m, 2H), 4,24-4,01 (m, 2H), 3,89-3,60 (m, 3H), 3,48 (br s, 3H), 2,63-2,51 (m, 2H), 2,43-2,32 (m, 2H), 2,29-2,07 (m, 6H), 1,86-1,72 (m, 1H), 1,62-1,44 (m, 2H), 1,39-1,02 (m, 10H), 0,99-0,66 (m, 9H). Algunos protones fueron ocultados por el pico de solvente y no se informaron.

**LCMS (ESI) (Método 2):**  $R_t$  = 1,965 min,  $m/z$  encontrado 600,3 [M+H]<sup>+</sup>.

**SFC (Método 11):**  $R_t$  = 4,904 min.

**Ejemplo 3 – Síntesis de (R)-*N*-etil-5-fluoro-*N*-isopropil-2-(5 (2-(6-(2-metoxietil)(metil)amino)-2-metilhexan-3-il)-2,6-diazaspiro[3.4]octan-6-il)-1,2,4-triazin-6-il)oxi) benzamida (Compuesto A) – Método de preparación C**

*Preparación del Intermedio 227- (R)-(1- (2,2-dimetil-4,6-dioxo-1,3-dioxan-5-il) -3-metilbutan-2-il) carbamato de terc-butilo*

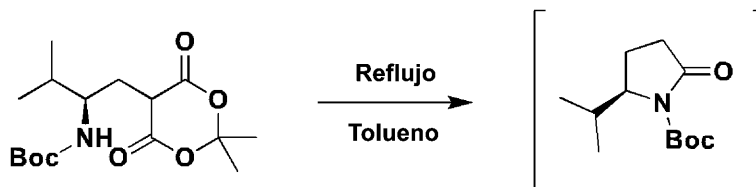


Se añadieron Boc-L-valina (44,9 kg), 2,2-dimetil-1,3-dioxano-4,6-diona (32,9 kg) y DMAP (35,5 kg) en DCM (607 kg) previamente enfriado a -10 a 0 °C a una solución de DCC (55,5 kg) en DCM (613 kg) durante 3 h y se envejeció durante 16 h a -10 a 0 °C. Se añadió solución acuosa al 10 % de ácido cítrico (449 kg) mientras se mantenía una temperatura por debajo de 10 °C. La suspensión resultante se envejeció químicamente durante 2 h a 10 °C y después se filtró. La torta de filtro se lavó con DCM (91 kg). El filtrado se separó y la capa orgánica se lavó con solución acuosa de ácido cítrico al 10 % de ácido cítrico (dos veces 450 kg) y solución acuosa de NaCl al 10 % (449 kg). A la fase orgánica (1200 kg) se le añadió ácido acético (75,0 kg) mientras se mantuvo una temperatura entre -10 a 0 °C. Se añadió borohidruro de sodio (18,0 kg) en porciones durante 5 h mientras se mantenía una temperatura en el rango de -10 a 0 °C y después la mezcla resultante se envejeció a -10 a 0 °C durante 16 h adicionales. La mezcla se calentó a 15 a 25 °C y se envejeció durante 2 h. La mezcla se lavó después con una solución acuosa de NaCl al 14 % (450 kg) seguido de un segundo lavado con una solución acuosa de NaCl al 14 % (432 kg) y un lavado de agua final (444 kg). La fase orgánica se concentró a presión reducida a 2-4 vol. Se añadió iso-propanol (143 kg) al residuo y se concentró a 4-5 vol. a presión reducida. Después de enfriar hasta -10 a 0 °C y el envejecimiento durante 8 h, la

suspensión resultante se filtró, se lavó con IPA (38 kg) y se secó para proporcionar el intermedio del título (46,7 kg, 69 % de rendimiento) como un sólido blanco.

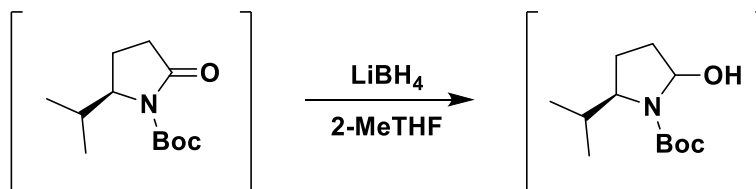
*Preparación del Intermedio 228- (R)-2-isopropil-5-oxopirrolidina-1 carboxilato de terc-butilo*

5



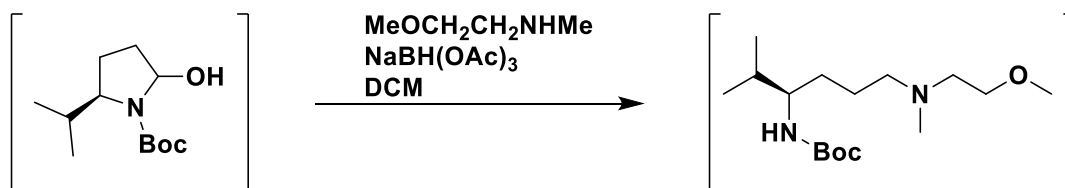
(R)-(1-(2,2-dimetil-4,6-dioxo-1,3-dioxan-5-il) -3-metilbutan-2-il) carbamato de *terc* -butilo (intermedio **227**) (46,7 kg) en tolueno (333 kg) se calentó a reflujo y se envejeció durante 4 h. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente, se filtró y se lavó con tolueno (20 kg). Los filtrados combinados se concentraron hasta secarse a presión reducida para proporcionar el compuesto deseado (31,05 kg, 96 % de rendimiento) como un aceite que se usó directamente sin purificación adicional.

15 *Preparación del Intermedio 229- (5R)-2-hidroxi-5-isopropilpirrolidina-1 carboxilato de terc-butilo.*



(*R*)-2-isopropil-5-oxopirrolidina-1 carboxilato de *terc*-butilo (intermedio **228**) (30,9 kg) en 2-MeTHF (26,7 kg) se enfrió hasta -5 a 5 °C. Una solución de LiBH<sub>4</sub> en 2-MeTHF (1 M, 45,2 kg, 54,4 mol) se añadió a lo largo de 3 h y la mezcla se envejeció durante 4 h. Una solución acuosa fría de NaHCO<sub>3</sub> al 5 % (163 kg) se añadió de -5 a 5 °C a lo largo de 3 h y se envejeció durante 2 h adicionales. La mezcla se calentó a temperatura ambiente y se envejeció durante 2 h más. La capa acuosa se separó y la capa orgánica se lavó con una solución acuosa de NaCl al 10 % (170 kg) y agua (155 kg). Durante el lavado con agua, se añadió una emulsión y NaCl sólido (3,1 kg) para afectar la separación. Después de eliminar la capa acuosa, la capa orgánica se concentró a presión reducida hasta sequedad para proporcionar el compuesto deseado (28,5 kg, 91 % de rendimiento) como un aceite, que se usó directamente sin purificación adicional.

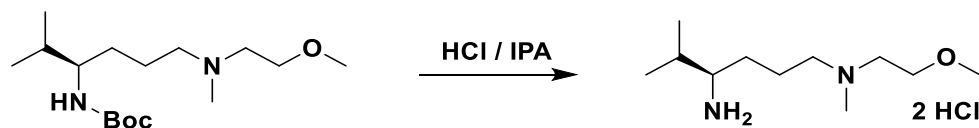
*Preparación del Intermedio 230 - (R)-(6-(2-metoxietil) (metil)amino)-2-metilhexan-3-il) carbamato de terc-butilo*



(5*R*)-2-hidroxi-5-isopropilpirrolidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (intermedio **229**) (28,55 kg) en DCM (344 kg), a 15 a 25 °C se trató con 2-metoxi-*N*-metiletan-1-amina (12,3 kg, 138,0 mol) y la mezcla resultante se envejeció durante 1 h. Se añadió triacetoxiborohidruro de sodio (40,12 kg) en porciones durante 5 h mientras se mantuvo

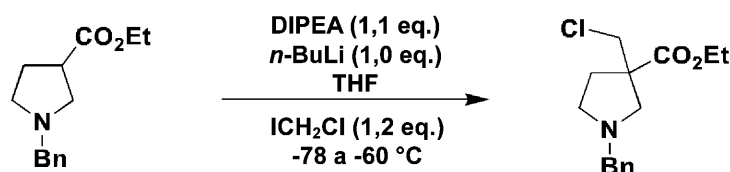
una temperatura entre 15 a 25 °C y la mezcla resultante se envejeció durante 48 horas. La mezcla de reacción se inactivó mediante la adición de una solución acuosa de NaOH al 8 % (184 kg) durante 2 horas mientras se mantuvo una temperatura entre 15 a 25 °C y la mezcla se envejeció químicamente durante 2 h más. La capa de agua se separó, y la capa orgánica se lavó con agua (169 kg). Después, la capa orgánica se concentró a presión reducida hasta sequedad para proporcionar el intermedio del título (33,26 kg, 88 % de rendimiento) como un aceite que se usó directamente sin purificación adicional.

*Preparación del Intermedio 231- (R)-N<sup>1</sup>-(2-metoxietil) -N<sup>1</sup>, 5-dimetilhexano-1,4-diamina, diclorhidrato*



A una solución 4 molar de HCl en iso-propanol (84,80 kg) a temperatura ambiente se le añadió una solución de (R)-(6-(2-metoxietil)(metil)amino)-2-metilhexan-3-il) carbamato de *tert*-butilo (intermedio **230**) (32,38 kg) en iso-propanol (25,6 kg) durante 3 h y la mezcla se envejeció a temperatura ambiente durante 19 h adicionales. Después se añadió metil *tert*-butil éter (95,25 kg) durante 1 h y la mezcla se envejeció durante 2,5 h. La suspensión resultante se filtró y se lavó con MTBE (53 kg). La torta de filtro se secó para proporcionar el compuesto del título (23,92 kg, 81 % de rendimiento) como un sólido blanco.

*Preparación del Intermedio 232- carboxilato de etil 1-bencil-3-(clorometil) pirrolidina-3*



5            A una solución de DIPEA (952 g, 1,1 eq.) en THF (6 l) que se enfrió a -35 a -25 °C se añadió *n*-BuLi (2,33 kg, 2,5 M en hexano, 1,0 eq.) mientras se mantiene una temperatura por debajo de -25 °C. La mezcla resultante se envejeció a -35 a -25 °C durante 30 min adicionales, después se enfrió hasta entre -78 y -60 °C. Una solución de carboxilato de etil 1-bencilpirrolidina-3 (2 kg, 1,0 eq.) en THF (2 l) a -78 a -60 °C se

10    añadió y se agitó durante 30 min. Después, se cargó cloroyodometano (1,81 kg, 1,2 eq.) a -78 a -60 °C. La mezcla de reacción se envejece de -60 a -40 °C durante 2 h. A la mezcla de reacción se le añadió a la solución acuosa de ácido cítrico (660 g en 6 L H<sub>2</sub>O) a una temperatura entre 0 y 10 °C y la mezcla resultante se envejeció con 20 a 30 °C durante 20 minutos adicionales. Después de separar las capas, la capa acuosa

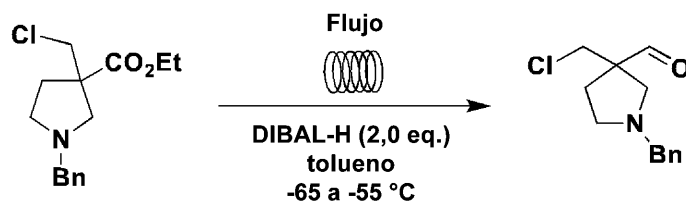
15    se extrajo con EtOAc (6 l) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (6 l), después se calentaron a 50 a 60 °C. Se cargó ácido oxálico (2,22 kg) a 50 a 60 °C. La mezcla resultante se agitó a 50 a 60 °C durante 3 h después se enfrió a 20 a 30 °C y se envejeció durante la noche. El sólido resultante se filtró y la torta se lavó con acetato de etilo (2 l). La torta húmeda se añadió a tolueno (4 l), H<sub>2</sub>O (8 l) y K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (1,5 eq.) y la

20    mezcla resultante se envejeció con 20 a 30 °C durante 20 min. Después de separar las capas, la capa acuosa se extrajo con tolueno (2 l). Las capas orgánicas se combinaron y se lavaron dos veces con agua (2 l). La fase orgánica se concentró a presión reducida

para producir 4,2 kg del compuesto deseado como una solución de tolueno (46 % en peso por ensayo, para obtener un rendimiento del ensayo de 80 %).

*Preparación del Intermedio 233-1-bencil- 3- (clorometil)pirrolidin-3-carbaldehído*

5

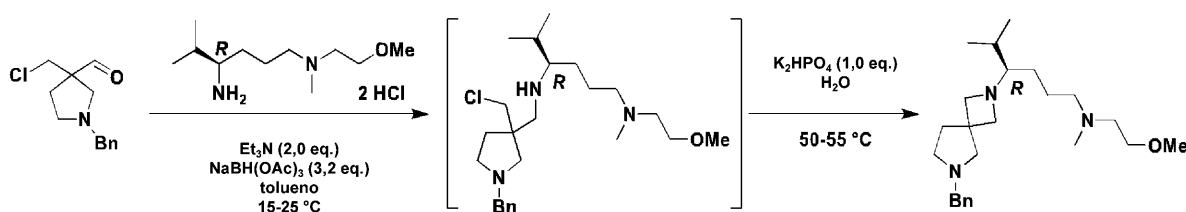


Reacción realizada en un sistema de química de flujo; una solución de carboxilato de etil 1-bencil-3-(clorometil)pirrolidina-3 (Intermedio **232**) (4,4 kg) en tolueno (26 l) se bombeó a 26,7 ml/min y se enfrió hasta -60 °C. Después del enfriamiento, se mezcló después con una solución enfriada de DIBAL-H (28,1 mol) en tolueno a -60 °C (28 l) con una velocidad de bombeo de 32,1 ml/min. La mezcla se pasó a través de un reactor de tubo de bobina Perfluoroalcoxi (PFA) a -60 °C (velocidad de flujo total de 58,8 ml/min con un tiempo de residencia de 5 segundos). La mezcla resultante se mezcló con MeOH enfriado (-60 °C) que se bombeó a la velocidad de 15,2 ml/min. Esta solución mezclada se bombeó a otro reactor de tubo de bobina de PFA a -60 °C (velocidad de flujo total de 74 ml/min con un tiempo de residencia de 5 segundos). La mezcla resultante se recolectó en un receptor que contenía sal de Rochelle en solución acuosa al 20 % en peso (20 V). Las capas se separaron y la fase orgánica se lavó dos veces con agua (2 x 44 l). La fase orgánica se combinó con otro lote de 3,0 kg preparado de manera análoga y se concentró a presión reducida para producir 20,8 kg de una solución de

tolueno del compuesto deseado (25,5 % en peso de ensayo por HPLC, brindando un rendimiento de ensayo de 85 %) que se usó directamente sin purificación adicional.

**$^1\text{H}$  NMR (300 MHz, cloroformo- $d$ ):**  $\delta$  9,62 (s, 1H), 7,39 - 7,20 (m, 5H), 3,83 - 3,57 (m, 4H), 2,96 (d,  $J$  = 10,2 Hz, 1H), 2,80 - 2,55 (m, 3H), 2,17 (ddd,  $J$  = 13,9, 7,9, 6,1 Hz, 1H), 1,83 (ddd,  $J$  = 13,4, 7,8, 5,5 Hz, 1H).

*Preparación del Intermedio 234-(R)-4-(6-bencil-2,6-diazaspiro[3.4]octan-2-il)-N-(2-metoxietil)-N,5-dimetilhexan-1-amina*



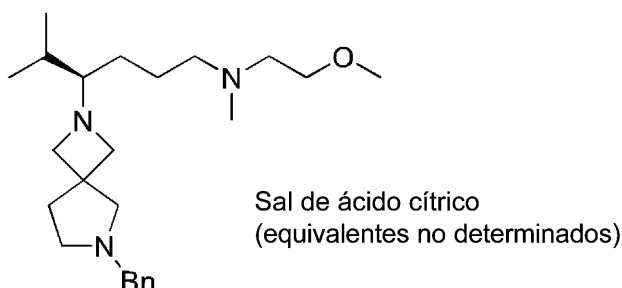
A una solución de 1-bencil-3-(clorometil)pirrolidin-3-carbaldehído (Intermedio **233**) en tolueno (3,0 kg, 10 % en peso) diluido con tolueno (30 l) y (R)-N<sup>1</sup>-(2-metoxietil)-N<sup>1</sup>, 5-dimetilhexano-1,4-diamina, diclorhidrato (intermedio **231**) (3,47 kg) se añadió trietilamina (2,55 kg, 25,2 mol) a 20 a 30 °C. La mezcla resultante se envejeció durante 2 h a 20 a 30 °C. Después, se cargó triacetoxiborohidruro de sodio (9,0 kg) a 20 a 30 °C y la mezcla se envejeció durante 12 h. La mezcla de reacción se enfrió a 5 a 15 °C y una solución acuosa de NaOH al 25 % en peso (25 l, ~16,75 eq.) se añadió manteniendo una temperatura por debajo de 35 °C. La mezcla resultante se envejeció a 20 a 30 °C durante 25 min y las capas se separaron. La capa orgánica se lavó con NaCl (10 l) al 15 % en peso y las capas se separaron nuevamente y se cargó agua (18 l) en la fase

orgánica. El pH de la fase acuosa se ajustó a 6~7 con HCl 4M ac. mientras se mantiene una temperatura interna por debajo de 35 °C. Después, la fase orgánica se descartó y la fase acuosa se separó y se basificó a pH 8~9 con K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>,

La mezcla resultante se calentó a 50 a 55 °C y se envejeció durante 3 h. La  
 5 mezcla de reacción después se enfrió a temperatura ambiente y se combinó con otros dos lotes (2,4 kg + 3,0 kg). Las corrientes combinadas se lavaron con metil éter de *terc*-butilo tres veces (3 x 40 l). A la capa acuosa resultante se le añadió metil éter de *terc*-butilo adicional (83 l) y la fase acuosa se basificó a pH 9~10 usando NaOH ac. a 8 % en peso mientras se mantiene una temperatura entre 15 y 35 °C. La capa acuosa se  
 10 separó y la capa orgánica se lavó tres veces con agua (3 x 30 ml). Después, la capa orgánica se concentró a presión reducida hasta aproximadamente 3 volúmenes y después se purgó con metanol tres veces (3 x 30 l) y se concentró hasta la sequedad para proporcionar el intermedio deseado (12,4 kg, 90 % de rendimiento aislado) como aceite amarillo claro, que se usó directamente sin purificación adicional.

15

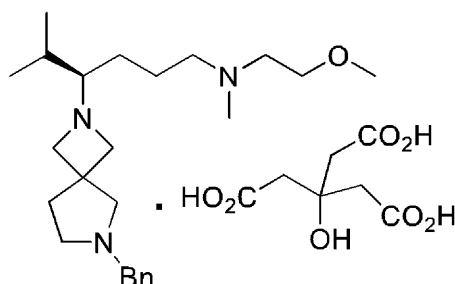
*Preparación del Intermedio 234a (sal de ácido cítrico del Intermedio 234)*



Se añadió EtOH (80 ml) y el Intermedio 234 (20 g) en un matraz de fondo redondo. A continuación, una solución 0,5 M de ácido cítrico en EtOH (100 ml; 1 equivalente) se añadió a la mezcla en el matraz de fondo redondo a temperatura ambiente. Posteriormente, la mezcla se evaporó hasta la sequedad (Rotavap, 40 °C).

- 5 Se añadió acetonitrilo (200 ml) al residuo y la mezcla se evaporó hasta la sequedad (Rotavap, 40 °C). Se añadió acetonitrilo (100 ml) al residuo y se agitó durante la noche en una placa de calentamiento magnética a temperatura ambiente. Finalmente, el Intermedio 234a se filtró y se secó a temperatura ambiente.

10 *Preparación de forma cristalina de sal de ácido cítrico del Intermedio 234 (Intermedio 234b)*



Relación cristalina entre el  
intermedio/ácido cítrico 3/2

- Se añadió el Intermedio 234a (3,72 g) a acetonitrilo (20 ml) a temperatura ambiente y la mezcla se agitó. La mezcla se calentó a 60 °C hasta que la mezcla de reacción se volvió homogénea (aproximadamente 10 minutos). A continuación, la mezcla se enfrió hasta 50 °C a una velocidad de 0,5 °C/min. A continuación, se añadieron semillas (19 mg de Intermedio 234a; 0,5 % p/p) y la mezcla se envejeció mientras se agitaba durante 3 horas y 30 minutos. A continuación, la mezcla se enfrió
- 15

no lineal a 20 °C durante 8 horas con un exponente de 2,3. La mezcla obtenida se agitó durante la noche y el producto se filtró y se secó (durante la noche a temperatura ambiente en campana). Después del aislamiento, se obtuvo el Intermedio 234b (2,75 g; rendimiento de 73,9 %) como la forma cristalina de la sal de ácido cítrico del Intermedio 234, La relación obtenida del producto intermedio/ácido cítrico es 3/2 (NMR).

El enfriamiento no lineal mencionado anteriormente se realizó de acuerdo con la siguiente fórmula:

Se inicia una nueva rampa lineal cada 30 segundos durante la duración definida del enfriamiento. La rampa se calcula de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$T_{establecido} = T_{valorinicial} - \left[ (T_{valorinicial} - T_{valorfinal}) * \left( \frac{t_{acción} + 30s}{Duración} \right)^n \right]$$

$T_{establecido}$ : Configurar el valor para cada nueva rampa

$T_{valor\ inicial}$ : Temperatura de mezcla medida al inicio de la trayectoria de enfriamiento

$T_{valor\ final}$ : Valor final definido de la trayectoria de enfriamiento

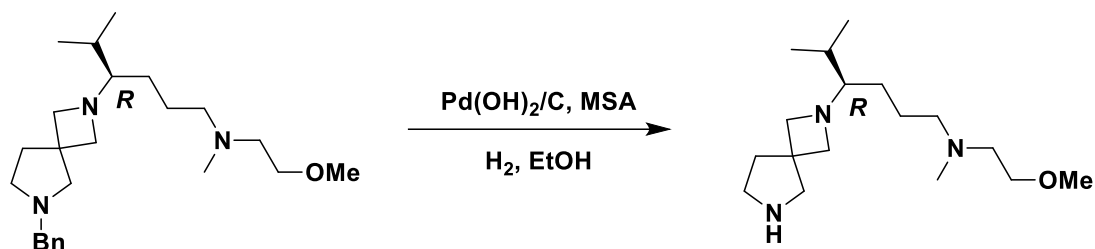
$t_{acción}$ : Tiempo real desde el inicio del enfriamiento

“Duración”: Duración definida de enfriamiento

n: Exponente

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, MeOH-*d*<sub>4</sub>) δ ppm 0,91 (3 H, d, *J*=6,88 Hz) 0,98 (3 H, d, *J*=6,88 Hz) 1,46 - 1,57 (2 H, m) 1,67 - 1,87 (2 H, m) 1,94 - 2,03 (1 H, m) 2,20 - 2,29 (2 H, m) 2,62 - 2,69 (2 H, m) 2,72 - 2,77 (4 H, m) 2,77 - 2,82 (2 H, m) 2,90 (2 H, t, *J*=7,32 Hz) 2,95 - 3,02 (2 H, m) 3,07 - 3,16 (2 H, m) 3,16 - 3,22 (2 H, m) 3,37 (3 H, s) 3,68 - 3,72 (2 H, m) 3,83 - 3,89 (2 H, m) 3,90 - 3,92 (2 H, m) 3,94 - 4,06 (2 H, m) 7,32 - 7,43 (5 H, m).

*Preparación del Intermedio 224 - (R)-N-(2-metoxietil)-N,5-dimetil-4-(2,6-diazaespiro[3.4]octan-2-il)hexan-1-amina*



5

A hidróxido de paladio sobre carbono (1,2 kg) en EtOH (1,47 kg) enfriado de -5 a 5 °C se le añadió ácido metanosulfónico (MSA) (11 kg), (R)-4-(6-bencil-2,6-diazaespiro [3,4] octan-2-il)-N-(2-metoxietil)-N,5-dimetilhexan-1-amina (Intermedio 234) (10 kg) y EtOH (250 l). La mezcla se calentó a 35-45 °C y se agitó en una atmósfera de hidrógeno

10 (0,27 a 0,40 MPa) durante 16-20 h. La mezcla se filtró sobre diatomita (20 kg) y la almohadilla se lavó con EtOH (24 l). El filtrado se concentró a presión reducida (<40 °C) a 2~3 vol. y después se purgó dos veces con 2-MeTHF (73 kg y 47 kg) para dar una solución de 2~3 vol. Después de la dilución con 2-MeTHF (65 kg), se añadió sulfato de sodio ac. al 10 % (30 kg) y la mezcla se enfrió a 0 a 10 °C, seguido de la adición de NaOH

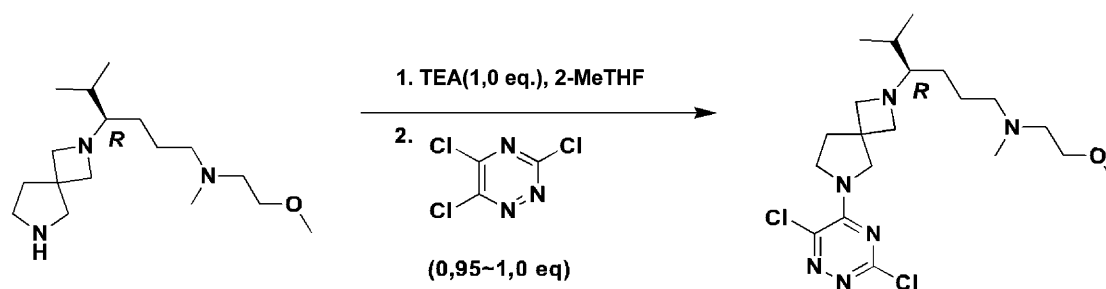
15 (50 kg) ac. al 16 % para ajustar el pH a 13~14. La temperatura se ajustó a 15 a 25 °C y se agitó durante 30 a 60 min. La capa acuosa se separó y se extrajo dos veces con 2-MeTHF (47 kg x 2). Las capas orgánicas combinadas se concentraron a presión reducida (<40 °C) a 3~4 vol. y se añadió 2-MeTHF (950 g). Después de la concentración a presión reducida (<40 °C) a 3~4 vol., la solución resultante se diluyó con 2-MeTHF (30 kg), se

20 secó al pasar a través de tamices moleculares 4A (25 kg) y se lavó con 2-MeTHF (30 kg).

La solución final se concentró para obtener el compuesto deseado (6,7 kg) como un aceite con 90,1 % de pureza del ensayo en un rendimiento corregido de 79 %.

*Preparación del Intermedio 225- (R)-4-(6-(3,6-dicloro-1,2,4-triazin-5-il) -2,6-diazaspiro*

5 *[3.4]octan-2-il)-N-(2-metoxietil)-N,5-dimetilhexan-1-amina*

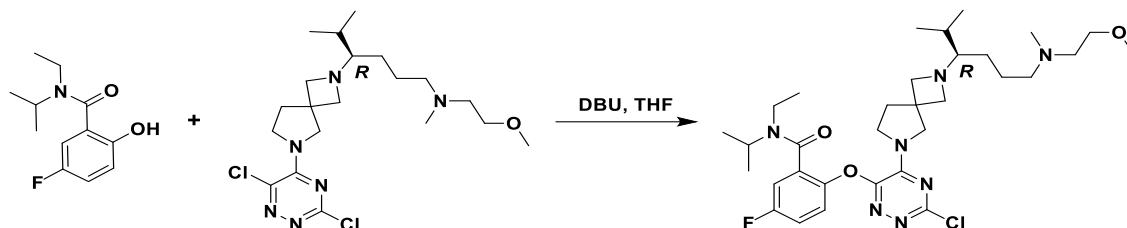


A (R)-N-(2-metoxietil)-N,5-dimetil-4 (2,6-diazaespiro [3.4]octan-2-il) hexan-1-amina  
10 (intermedio **224**) (100 g) se añadió 2-MeTHF (430 g) y TEA (68 g) y la mezcla se enfrió  
hasta -50 a -40 °C. Se añadió 3,5,6-tricloro-1,2,4-triazina (62 g) en 2-MeTHF (172 g) y la  
mezcla se agitó durante 1 a 3 h. La mezcla resultante se calentó hasta -20 a -10 °C y se  
añadió una solución acuosa de NaHCO<sub>3</sub> al 7 %, la mezcla se calentó a 20 a 30 °C y se  
agitó durante 30 a 60 min. La capa acuosa se eliminó y la capa orgánica se lavó con  
15 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 10 % (500 g). La capa orgánica se secó al pasar a través de tamices moleculares  
4 Å (220 g) y se lavó con 2-MeTHF (180 g). El intermedio del título se obtuvo en el  
rendimiento del 90 % del ensayo como una solución de 14,8 % en peso en 2-MeTHF.

Compuesto 393 - (R)-2-(3-cloro-5-(2-(6-(2-metoxietil)(metil)amino) -2-metilhexan-3-il)-2,6-diazaspiro[3.4]octan-6-il)-1,2,4-triazin-6-il) oxi) -N-etil-5-fluoro-N-isopropil-benzamida

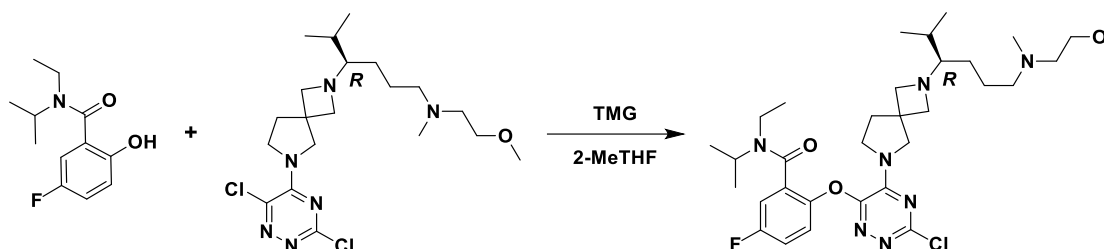
Método de síntesis A para el Compuesto 393:

5



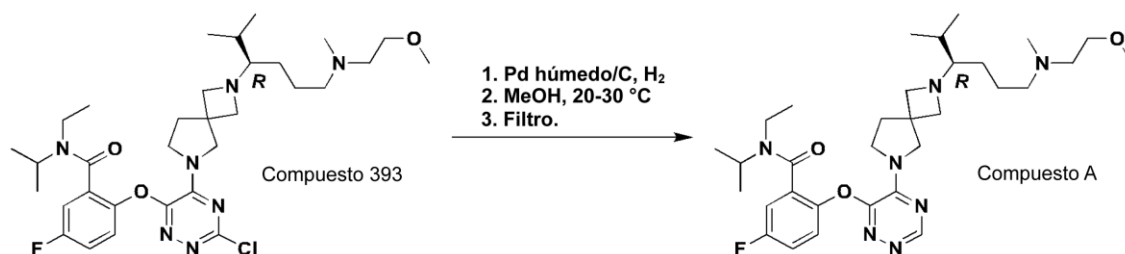
La mezcla de *N*-etil-5-fluoro-2-hidroxi-*N*-isopropilbenzamida (intermedio **28**) (1,10 g, 4,88 mmol), (*R*) -4- (6- (3,6-dicloro-1,2,4-triazin-5-il) -2,6-diazaspiro [3.4] octan-2-il) -*N*-(2-metoxietil)-*N*,5-dimetilhexan-1-amina (intermedio **225**) (1,70 g, 3,82 mmol) y DBU (750 mg, 4,93 mmol) en THF anhidro (15 ml) se agitó a 40 °C durante 8 horas. Después de enfriar a RT, la mezcla se concentró a presión reducida, el residuo resultante se diluyó con DCM (60 ml) y se lavó con H<sub>2</sub>O (20 ml × 3). La capa orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para dar el producto crudo que fue FCC purificado (MeOH/DCM = 0 % a 10 %) para proporcionar un aceite amarillo (1,40 g), que se separó adicionalmente mediante SFC sobre DAICEL CHIRALPAK AD (columna: 250 × 50 mm, 10 um; fase móvil: A: CO<sub>2</sub> supercrítico, B: EtOH (0,1 % de amoníaco), A:B = 50:50 a 70 ml/min; Temp. de la columna: 38 °C; Presión de la tobera: 100Bar; Temperatura de la tobera: 60 °C; Temperatura del evaporador: 20 °C; Temperatura del condensador: 25 °C; Longitud de onda: 220 nm) para proporcionar el compuesto del título (1,0 g).

*Método de síntesis A para el Compuesto 393:*



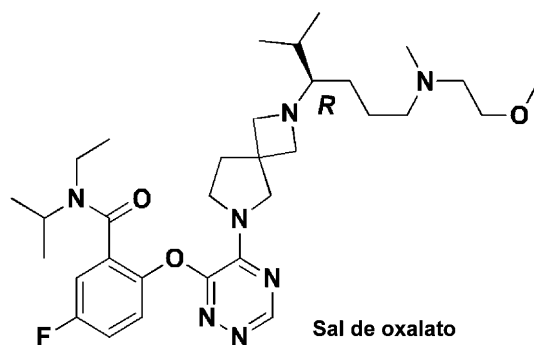
- 5 A una solución de 2-MeTHF de (*R*)-4-(6-(3,6-dicloro-1,2,4-triazin-5-il) -2,6-diazospiro [3.4] octan-2-il) -*N*- (2-metoxietil) -*N*, 5-dimetilhexan-1-amina (intermedio **225**) (676 g de una solución al 14,8 % en peso en 2-MeTHF, 100 g corregida del intermedio **225**) y *N*-etil-5-fluoro-2-hidroxi-*N*-isopropilbenzamida (intermedio **28**) (50,6 g) en 2-MeTHF (40 g) a 20 a 30 °C se le añadió tetrametilguanidina (31 g) y la mezcla se agitó durante 40 a 48
- 10 h. Se añadió una solución acuosa de NaHCO<sub>3</sub> al 7 % (500 g) y la mezcla se agitó durante 30 a 60 min. La capa acuosa se eliminó y la capa orgánica se lavó dos veces con solución acuosa de NaOH al 4 % (2 x 500 g) y una vez con solución acuosa de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 10 % (500 g). La capa orgánica se concentró a presión reducida (<40 °C) a 2,2~3,0 vol. y se purgaron tres veces con MeOH (1 x 790 g y 2x395g) hasta que tanto el contenido de 2-
- 15 MeTHF como el agua fueron ambos ≤ 1,0 % para proporcionar el compuesto deseado en un rendimiento del ensayo del 86 % como una solución al 60,1 % en peso en metanol.

*Compuesto A - (R)-N-etil-5-fluoro-N-isopropil-2-(5-(2-(6-(2-metoxietil) (metil) amino)-2-metilhexan-3-il)-2,6-diazaspiro[3.4]octan-6-il)-1,2,4-triazin-6-il) oxi) benzamida*



Una solución de metanol (*R*)-2-((3-cloro-5-(2-(6-((2-metoxietil)(metil) amino) -2-metilhexan-3-il)-2,6-diazaspiro[3.4]octan-6-il)-1,2,4-triazin-6-il) oxi-*N*-etil-5-fluoro-*N*-isopropilbenzamida (compuesto **393**) (163,93g de una solución al 60,1 % en peso en MeOH, 100 g corregida del compuesto **393**), se agitó paladio sobre carbono (10 g) y MeOH (316 g) a 20 a 30 °C en una atmósfera de hidrógeno (0,20 a 0,30 Mpa) durante 18 h. La mezcla se filtró sobre diatomita (75 g) y la torta se lavó con MeOH (158 g). El filtrado se concentró a presión reducida ( $\leq 40$  °C) a ~3 vol., después se purgó con acetato de isopropilo (IPAc, 870 g) concentrando a ~3 vol. La mezcla se diluyó después con IPAc (696 g) y se añadió una solución acuosa de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 20 % (500 g). La mezcla se agitó durante 30 a 60 minutos. La capa acuosa se eliminó. La capa orgánica se lavó con agua (500 g) y después se concentró a presión reducida  $< 45$  °C a ~3 vol. El intermedio del título se obtuvo en aproximadamente 90 % de rendimiento del ensayo como una solución al 48,1 % en peso en IPAc.

**Ejemplo 4 – Síntesis de oxalato de (*R*)-*N*-etil-5-fluoro-*N*-isopropil-2-((5-(2-(6-((2-metoxietil)(metil)amino) -2-metilhexan-3-il)-2,6-diazaspiro[3.4]octan-6-il)-1,2,4-triazin-6-il)oxi) benzamida (Compuesto A3)**



### Compuesto A3:

A una solución de (*R*)-*N*-etil-5-fluoro-*N*-isopropil-2-((5-(2-(6-(2-metoxietil) (metil) amino) -2-metilhexan-3-il)-2,6-diazaspiro[3.4]octan-6-il)-1,2,4-triazin-6-il) oxi) benzamida (Compuesto **A**) (270 mg, 0,450 mmol) en 20 ml de ACN (20 ml) se le añadió ácido oxálico (81,0 mg, 0,900 mmol). Después de la adición, la mezcla de reacción se agitó a RT durante 1 h. Luego, la mezcla de reacción se concentró, el residuo se volvió a disolver en ACN y agua desionizada, y se liofilizó para obtener el compuesto del título (350 mg) como un sólido blanco.

**<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, metanol-*d*<sub>4</sub>):** δ = 8,48 (s, 1H), 7,52-7,11 (m, 3H), 4,54-3,64 (m, 12H), 3,40-3,34 (m, 5H), 3,23-3,13 (m, 2H), 2,90 (s, 3H), 2,54-2,27 (m, 2H), 2,19-2,03 (m, 1H), 1,97-1,77 (m, 2H), 1,75-1,50 (m, 2H), 1,35-0,65 (m, 17H).

**<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** δ = 8,51 (s, 1H), 7,51-7,29 (m, 3H), 4,29-3,34 (m, 12H), 3,23-2,84 (m, 7H), 2,70 (s, 3H), 2,35-2,09 (m, 2H), 2,05-1,85 (m, 1H), 1,81-1,58 (m, 2H), 1,56-1,33 (m, 2H), 1,18-0,60 (m, 17H).

**LCMS (ESI) (Método 2):** R<sub>t</sub> = 1,969 min, m/z encontrado 600,4 [M+H]<sup>+</sup>.

### Ejemplo 5: Síntesis del Compuesto A1



5 A una solución del Compuesto **A** (207,90 g de una solución al 48 % en peso en IPAc, 100 g de compuesto **A** activo) en IPAc (360 g) se le añadió EtOH (63 g) a 20 a 25 °C. Después, la solución se trató con HCl conc. (32,9 g) en EtOH (49,5 g) durante ~15 min. La mezcla se sembró con la semilla cristalina del Compuesto **A1** (2 g, 2 % de carga de semillas) después se envejeció durante 18 h. IPAc (870 g) se añadió lentamente durante

10 4 h a entre 20 y 25 °C y la suspensión se agitó durante 18 h adicionales. Después de enfriar a ~5 °C, el producto se filtró, se lavó con IPAc (522 g) y se secó al vacío a 20-30 °C para proporcionar el Compuesto **A1** débilmente cristalino como un sólido blanco (91,0 % de rendimiento, 115,4 g). (Nota: Una pequeña cantidad de material de semilla usado en la reacción se obtuvo mediante un protocolo de reacción análogo en pequeña escala)

15 Recristalización Una solución de Compuesto **A1** débilmente cristalino (100 g), EtOH (166 g), agua purificada (21,5 g) e IPAc (178 g) se agitó a 20 a 30 °C durante 0,5-2 horas para obtener una solución transparente. Se añadió gota a gota Extra IPAc (522 g) durante 1~2 h y después la mezcla se sembró con la semilla del Compuesto **A1** cristalino (2 g, 2 % de carga de semillas). Después, la mezcla se envejeció durante 18

~20 horas, se añadió lentamente IPAc (348 g) durante 12 h a entre 20 y 30 °C, y la suspensión se agitó durante 55~60 h adicionales. El producto se filtró, se lavó con IPAc (158 g) y se secó *in vacuo* a 20~30 °C para proporcionar el Compuesto **A1** como un sólido blanco (85 % de rendimiento, 85,0 g, neta).

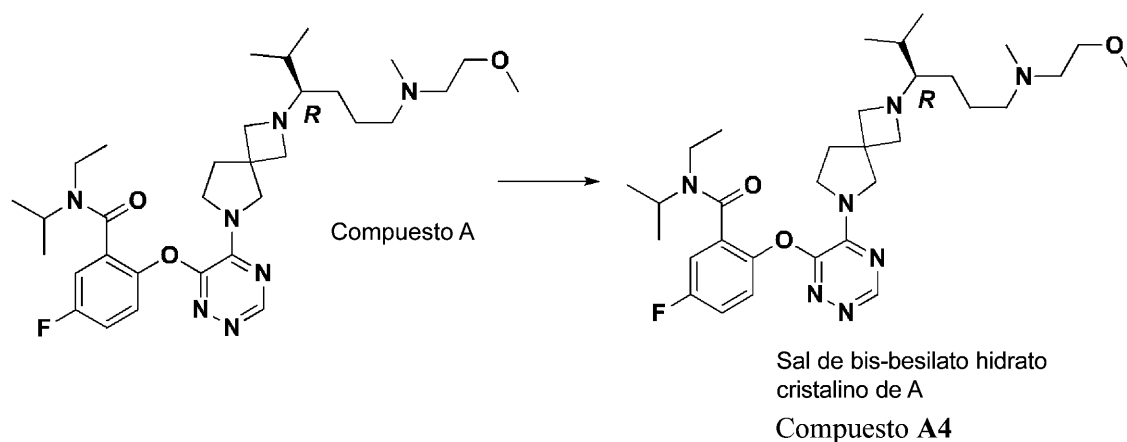
5 **<sup>1</sup>HNMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz):**  $\delta$  = 11,60 (1H, brs), 10,8 (1H, brs), 8,52 (1H, s), 7,36 (3H, m), 3,97-4,20 (7H, m), 3,64-3,71 (4H, m), 3,47 (7H, m), 3,25 (2H, m), 3,05 (3H, m), 2,73 (3H, s), 2,10-2,45 (1H, m), 1,99 (1H, m), 1,78 (2H, m), 1,55 (2H, m), 0,83-1,12 (12H, m), 0,70 (2H, m).

**LCMS (Método 7):**  $R_t$  = 0,669 min,  $m/z$  encontrado 600,5  $[M+H]^+$ .

10

**Ejemplo 6 – Síntesis de la forma cristalina A de sal de bis-besilato (*R*)-N-etil-5-fluoro-N-isopropil-2-(5-(2-(6-(2-metoxietil) (metil) amino) -2-metilhexan-3-il)-2,6-diazaespiro[3.4]octan-6-il)-1,2,4-triazin-6-il) oxi) benzamida hidrato (Compuesto A4) (agua equivalente no determinada)**

15



Se añadió 43,06 g de ácido bencenosulfónico (2 equivalentes con respecto al Compuesto **A** de base libre) a 840 ml de una mezcla acetona/agua 95/5 v/v y se disolvió. Se añadió 192,8 g de una solución del Compuesto A (que contiene 80 g de API) en IPAc. El material se disolvió, lo que dio como resultado una solución transparente. Se  
5 añadió 80 ml de IPAc adicionales y la temperatura se ajustó a 25 °C. Se añadió 2 % de semillas y la mezcla se agitó durante una hora a 25 °C. Luego, se añadió 28,8 V (2312 ml) de IPAc durante un período de 8 horas. Después, la suspensión se agitó durante 18 horas a 25 °C. La suspensión se filtró y se lavó con 320 ml de una mezcla de acetona/agua/IPAc 23.75/1.75/75 v/v/v. Se obtuvieron 122,91 g de la forma cristalina  
10 A de hidrato de bis-besilato (agua equivalente no determinada).

Un experto en la técnica comprenderá que una pequeña cantidad del material de semilla inicial usado en la reacción anterior puede obtenerse mediante un protocolo de reacción análoga en pequeña escala sin la adición de semillas y esperar la nucleación espontánea. Las semillas iniciales de la sal de besilato también se obtuvieron durante  
15 los experimentos de cribado de sal. En estos experimentos, se pesaron 100 mg de la base libre en viales de 2 ml y después se añadieron 200 µl de acetato de etilo o acetona para disolver la base libre. Se añadió 1 eq de contraiones (ácido bencenosulfónico) a las muestras, y las muestras se agitaron a 25 °C durante 3 días. La suspensión obtenida se centrifugó y produjo semillas iniciales.

20 Una cantidad apropiada de forma cristalina A de sal de bis-besilato (*R*)-N-etil-5-fluoro-N-isopropil-2-((5-(2-(6-((2-metoxietil)(metil)amino)-2-metilhexan-3-il)-2,6-diazaespiro[3.4]octan-6-il)-1,2,4-triazin-6-il)oxi)benzamida se disolvió en DMSO deuterado y se registró el espectro 1D<sup>1</sup>H NMR.

Se utilizó un espectrómetro de NMR Bruker AVANCE NEO-600 MHz equipado con una sonda de alta resolución Bruker 5 mm PA BBO 600S3 BB-H-D-05 Z-GRD y ejecutando el software TOPSPIN 4,0, para recolectar un experimento de protones unidimensional a 300K en la muestra en DMSO deuterado.

5           <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm 0,69 (br s, 2 H) 0,82 - 0,98 (m, 9 H) 1,07 (br s, 4 H) 1,31 - 1,46 (m, 1 H) 1,51 (br d, *J*=2,91 Hz, 1 H) 1,69 (br d, *J*=3,45 Hz, 2 H) 1,98 (br s, 1 H) 2,06 - 2,45 (m, 2 H) 2,77 (br s, 3 H) 2,87 - 3,19 (m, 3 H) 3,24 (br s, 1 H) 3,31 (s, 6 H) 3,64 (br s, 4 H) 3,71 - 4,59 (m, 7 H) 7,24 - 7,54 (m, 9 H) 7,61 (br d, *J*=7,27 Hz, 4 H) 8,45 - 8,60 (m, 1 H) 9,24 (br s, 1 H) 9,44 - 9,82 (m, 1 H).

10

**Ejemplo 7 – Síntesis alternativa de la forma cristalina A de sal de bis-besilato (*R*) - N-etil-5-fluoro-N-isopropil-2-(5-(2-(6-(2-metoxietil)(metil) amino) -2-metilhexan-3-il)-2,6-diazaespiro[3.4]octan-6-il)-1,2,4-triazin-6-il) oxi) benzamida hidrato (Compuesto A4) (agua equivalente no determinada)**

15           Una mezcla de isopropanol/agua 95/5 (24 ml) se cargó en un matraz y se calentó a 40 °C. Se añadió ácido bencenosulfónico (4,31 g; 98 %). Posteriormente, se añadió 19,3 g de una solución del Compuesto A (que contenía 8 g del Compuesto A) en IPAc. Se añadieron otros 16 ml de IPAc. Se añadieron 2 % de semillas y la mezcla se agitó durante 1 hora a 40 °C. Luego se añadió IPAc (115,2 ml) gota a gota durante un período

20           de 8 horas. A continuación, la mezcla se enfrió a 0 °C durante 15 horas. La suspensión se filtró y la torta húmeda se lavó con (IPA/H<sub>2</sub>O 95/5)/IPAc 1/6 (32 ml). La torta húmeda se secó a 25 °C durante 16 horas para obtener 11,44 g de forma cristalina A de hidrato de bis-besilato (agua equivalente o determinada).

## Forma cristalina A

Forma cristalina A de sal de bis-besilado (*R*)-*N*-etil-5-fluoro-*N*-isopropil-2-((5-(2-(6-((2-metoxietil)(metil)amino)-2-metilhexan-3-il)-2,6-diazaespiro[3.4]octan-6-il)-1,2,4-triazin-6-il)oxi) benzamida hidrato puede caracterizarse por un patrón de difracción de rayos X en polvo.

El análisis de difracción de rayos X en polvo (XRPD) se llevó a cabo en un difractómetro PANalytical Empyrean. El instrumento está equipado con un tubo de rayos X Cu-K $\alpha$  que utiliza ópticas sintonizables iCore y dCore para el haz incidente y difractado, respectivamente. El compuesto se cargó en la cavidad de un portamuestras de 16 mm usando la técnica de carga posterior.

Las muestras se ejecutaron en XRPD usando el siguiente método:

Tubo: Cu: K-Alfa ( $\lambda=1,541874\text{\AA}$ )

Generador: Voltaje: 45 kV; Corriente: 40 mA

Geometría: Bragg-Brentano

Modo de exploración: Exploración continua

Rango de escaneado: 3 a 35 grados

Tamaño de paso: 0,0131 grados

Tiempo de conteo: 30s

Tiempo de revolución de la centrífuga: 1 s

Trayecto de haz incidente (iCore)

Programa. rendija de divergencia: automático

Longitud irradiada: 10 mm

Rendija Soller: 0,03 rad

Máscara 1: 14 mm

Máscara 2: 6 mm

Ancho: 7,7 mm

5 Trayecto del haz difractado (dCore)

Rendija antidispersión: automática

Longitud irradiada: 10 mm

Rendija Soller: 0,04 rad

detector: PIXcel3D- Medipix3 1x1

10

Un experto en la materia reconocerá que los patrones de difracción y las posiciones de los picos son, típicamente, sustancialmente independientes del difractómetro usado y de si se usa un método específico de calibración. Típicamente, las posiciones de los picos pueden diferir en aproximadamente  $\pm 0,2^\circ$  dos zeta, o  
 15 menos. Las intensidades (e intensidades relativas) de cada pico de difracción específico también pueden variar como una función de diversos factores, que incluyen, pero no se limitan a, tamaño de partícula, orientación, pureza de la muestra, etc.

El patrón de difracción de polvo de rayos X comprende picos a 5,4, 7,2, 11,1, 11,9 y 21,7 grados dos theta  $\pm 0,2$  grados dos theta. El patrón de difracción de polvo de  
 20 rayos X puede comprender además al menos un pico seleccionado de 13,7, 14,5, 14,7, 15,0, 16,5, 17,8, 19,0, 19,4 o 20,1 grados dos theta  $\pm 0,2$  grados dos theta.

La forma A puede caracterizarse, además, por un patrón de difracción de rayos X en polvo que tiene cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve o más picos seleccionados de aquellos picos identificados en la Tabla 2.

La forma A, forma I puede caracterizarse, además, por un patrón de difracción de rayos X en polvo que comprende aquellos picos identificados en la Tabla 2, en donde la intensidad relativa de los picos es mayor que aproximadamente 2 %, preferentemente, mayor que aproximadamente 5 %, con mayor preferencia, aproximadamente 10 %, con mayor preferencia, aproximadamente 15 %. Sin embargo, un experto en la técnica reconocerá que la intensidad relativa de los picos puede variar entre diferentes muestras y diferentes mediciones en la misma muestra.

La forma A puede caracterizarse, además, por un patrón de difracción de rayos X en polvo sustancialmente como se representa en la Figura 1.

La Tabla 2 proporciona listados pico e intensidad relativa para XRPD de la forma cristalina A de sal de bis-besilato (*R*)-N-etil-5-fluoro-N-isopropil-2-(5-(2-(6-(2-metoxietil)(metil)amino) -2-metilhexan-3-il)-2,6-diazaspiro[3.4]octan-6-il)-1,2,4-triazin-6-il) oxi) benzamida hidrato sal de BSA (**Figura 1**).

**Tabla 2 - Listados de picos e intensidad relativa para XRPD de la Forma A**

| Pos. [°2.ª] | Int. rel. [%] |
|-------------|---------------|
| 5,3965      | 16,30         |
| 7,1906      | 23,69         |
| 9,2513      | 8,14          |
| 9,4433      | 7,39          |
| 11,0719     | 11,34         |
| 11,9144     | 73,29         |
| 12,3921     | 29,17         |
| 12,5717     | 22,93         |
| 12,8791     | 8,93          |
| 13,6790     | 26,58         |
| 13,8694     | 15,67         |
| 14,4793     | 38,19         |

|         |        |
|---------|--------|
| 14,7398 | 55,26  |
| 14,9599 | 56,99  |
| 15,8715 | 20,66  |
| 16,4606 | 22,37  |
| 17,0459 | 20,43  |
| 17,4421 | 34,59  |
| 17,8203 | 46,78  |
| 18,2871 | 30,73  |
| 18,9573 | 43,91  |
| 19,4485 | 41,00  |
| 20,1190 | 35,53  |
| 20,7356 | 18,05  |
| 21,0535 | 30,09  |
| 21,6801 | 100,00 |
| 22,0236 | 18,06  |
| 22,7925 | 29,92  |
| 23,5044 | 41,92  |
| 23,9959 | 43,96  |
| 24,5555 | 31,47  |
| 25,1401 | 25,01  |
| 25,7588 | 59,24  |
| 26,0910 | 53,05  |
| 26,6137 | 39,47  |
| 27,5409 | 24,89  |
| 28,5493 | 22,44  |
| 29,1699 | 13,97  |
| 30,1441 | 21,01  |
| 31,2560 | 14,66  |
| 31,8783 | 16,47  |
| 32,7054 | 17,11  |
| 33,2797 | 24,40  |
| 33,9762 | 15,63  |

El Compuesto **A4** descrito en la presente descripción en PCT/CN2021/100466 (presentado el 17 de junio de 2021), que se incorpora en la presente descripción por referencia en su totalidad, para todos los fines.

## Métodos analíticos

Se generó la información analítica en los compuestos anteriores o en las Tablas a continuación usando los métodos analíticos descritos a continuación.

### 5 *Métodos de NMR:*

Algunos experimentos de NMR se llevaron a cabo usando un espectrómetro Bruker Avance III 400 a temperatura ambiente (298,6 K), usando bloqueo de deuterio interno y equipado con cabezal de sonda de 5 mm de BBO 400 MHz S1 con gradientes z y operando a 400 MHz para el protón y 100 MHz para carbono. Cambios químicos ( $\delta$ ) se informan en partes por millón (ppm). Los valores J se expresan en Hz.

Algunos experimentos de NMR se realizaron usando un espectrómetro Varian 400-MR a temperatura ambiente (298,6 K), usando bloqueo interno de deuterio y equipado con cabezal de sonda Varian 400 4NUC PFG con gradientes z y operando a 400 MHz para el protón y 100 MHz para carbono. Cambios químicos ( $\delta$ ) se informan en partes por millón (ppm). Los valores J se expresan en Hz.

Algunos experimentos de NMR se realizaron usando un espectrómetro Varian 400-VNMRS a temperatura ambiente (298,6 K), usando bloqueo interno de deuterio y equipado con cabezal de sonda Varian 400 ASW PFG con gradientes z y operando a 400 MHz para el protón y 100 MHz para carbono. Cambios químicos ( $\delta$ ) se informan en partes por millón (ppm). Los valores J se expresan en Hz.

Algunos experimentos de NMR se llevaron a cabo usando un espectrómetro Bruker AVANCE III HD 300 a temperatura ambiente (298,6 K), usando bloqueo de deuterio interno y equipado con cabezal de sonda de 5 mm de PA BBO 300S1 BBF-H-D-05 Z con

gradientes z y operando a 300 MHz para el protón y 75 MHz para el carbono. Los cambios químicos (d) se informan en partes por millón (ppm). Los valores J se expresan en Hz.

### *LCMS (cromatografía líquida/espectrometría de masa)*

#### 5 Procedimiento general

La medición por cromatografía de líquidos de alto rendimiento (HPLC, por sus siglas en inglés) se realizó usando una bomba de LC, una matriz de diodos (DAD, por sus siglas en inglés) o un detector UV y una columna como se especifica en los métodos respectivos. Los detalles de HPLC se proporcionan a continuación en la Tabla 3. De ser  
10 necesario, se incluyeron detectores adicionales (ver las Tablas 3 y 4 a continuación).

El flujo desde la columna se llevó al espectrómetro de masas (MS, por sus siglas en inglés) que se configuró con una fuente de iones a presión atmosférica. Está dentro del conocimiento del experto en la técnica establecer los parámetros de calibración (p. ej., rango de exploración, tiempo de permanencia...) para obtener iones que permitan  
15 la identificación del peso molecular (PM) monoisotópico nominal del compuesto. La adquisición de datos se realizó con el software adecuado.

Los compuestos se describen por sus tiempos de retención ( $R_t$ ) experimentales e iones. Si no se especifica de manera diferente en la tabla de datos, el ion molecular reportado corresponde a  $[M+H]^+$  (molécula protonada) y/o  $[M-H]^-$  (molécula  
20 desprotonada). Si el compuesto no fuera directamente ionizable, se especifica el tipo de aducto (es decir,  $[M+NH_4]^+$ ,  $[M+HCOO]^-$ , etc.). Para moléculas con múltiples patrones isotópicos (Br, Cl, etc.), el valor reportado es el obtenido para la masa isotópica más baja. Todos los resultados se obtuvieron con incertidumbres experimentales que se asocian comúnmente con el método usado.

De aquí en adelante, “SQD” significa Detector de cuadrupolo único, “RT” temperatura ambiente, “BEH” híbrido de etilsiloxano/sílice en puente, “HSS” sílice de alta resistencia, “DAD” detector de matriz de diodos.

### 5 Tabla 3 - Códigos del método de LCMS

| Código del método | Instrumento                | Columna                                | Fase móvil                                                                            | Gradiente                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | Flujo<br>----<br>Columna T | Tiempo de ejecución |     |         |    |   |      |    |    |      |   |    |      |   |    |      |    |   |      |    |   |                   |    |
|-------------------|----------------------------|----------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|---------------------|-----|---------|----|---|------|----|----|------|---|----|------|---|----|------|----|---|------|----|---|-------------------|----|
| 1                 | Agilent                    | Waters XBridge C18 (2,0 x 50 mm, 5 µm) | Fase móvil A: H <sub>2</sub> O con 0,04 % de TFA; Fase móvil B: ACN con 0,02 % de TFA | Se mantuvo 100 % A durante 1 min, se aplicó un gradiente de 100 % A a 40 % A en 4 min y 40 % A hasta 15 % A en 2,5 min. y después volver al 100 % A en 2 min y mantenerlo durante 0,5 min. El tiempo posterior es 0,5 min.                                                                                                                  | 0,8<br>----<br>50          | 10                  |     |         |    |   |      |    |    |      |   |    |      |   |    |      |    |   |      |    |   |                   |    |
| 2                 | Agilent                    | Waters XBridge C18 (2,0 x 50 mm, 5 µm) | Fase móvil A: H <sub>2</sub> O con 0,04 % de TFA; Fase móvil B: ACN con 0,02 % de TFA | Primero, se mantuvo 90 % A durante 0,8 min. Después, se aplicó un gradiente A a 20 % A y 80 % B en 3,7 min y se mantuvo durante 3 min. Y después volver a 90 % A en 2 min y mantener durante 0,5 min. El tiempo posterior es 0,5 min.                                                                                                       | 0,8<br>----<br>50          | 10                  |     |         |    |   |      |    |    |      |   |    |      |   |    |      |    |   |      |    |   |                   |    |
| 7                 | Agilent LC 1260 con MS6120 | XBridge C18, 4,6 x 150 mm, 3,5 µm      | Fase móvil A 0,05 % TFA en H <sub>2</sub> O<br>Fase móvil B 0,05 % de TFA en ACN;     | <table><tr><th>Tiempo (min)</th><th>A %</th><th>B %</th></tr><tr><td>Inicial</td><td>95</td><td>5</td></tr><tr><td>11,0</td><td>65</td><td>35</td></tr><tr><td>13,0</td><td>5</td><td>95</td></tr><tr><td>15,0</td><td>5</td><td>95</td></tr><tr><td>16,0</td><td>95</td><td>5</td></tr><tr><td>20,0</td><td>95</td><td>5</td></tr></table> | Tiempo (min)               | A %                 | B % | Inicial | 95 | 5 | 11,0 | 65 | 35 | 13,0 | 5 | 95 | 15,0 | 5 | 95 | 16,0 | 95 | 5 | 20,0 | 95 | 5 | 1,5<br>----<br>45 | 20 |
| Tiempo (min)      | A %                        | B %                                    |                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                            |                     |     |         |    |   |      |    |    |      |   |    |      |   |    |      |    |   |      |    |   |                   |    |
| Inicial           | 95                         | 5                                      |                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                            |                     |     |         |    |   |      |    |    |      |   |    |      |   |    |      |    |   |      |    |   |                   |    |
| 11,0              | 65                         | 35                                     |                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                            |                     |     |         |    |   |      |    |    |      |   |    |      |   |    |      |    |   |      |    |   |                   |    |
| 13,0              | 5                          | 95                                     |                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                            |                     |     |         |    |   |      |    |    |      |   |    |      |   |    |      |    |   |      |    |   |                   |    |
| 15,0              | 5                          | 95                                     |                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                            |                     |     |         |    |   |      |    |    |      |   |    |      |   |    |      |    |   |      |    |   |                   |    |
| 16,0              | 95                         | 5                                      |                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                            |                     |     |         |    |   |      |    |    |      |   |    |      |   |    |      |    |   |      |    |   |                   |    |
| 20,0              | 95                         | 5                                      |                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                            |                     |     |         |    |   |      |    |    |      |   |    |      |   |    |      |    |   |      |    |   |                   |    |

Flujo expresado en ml/min; temperatura de la columna (T) en °C; tiempo de ejecución en minutos

### SFC analítico

#### 10 Procedimiento general para los métodos de SFC

La medición por SFC se realizó mediante el uso de un sistema analítico de cromatografía de fluido supercrítico (SFC, por sus siglas en inglés) compuesto por una bomba binaria para suministrar dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) y modificador, un automuestreador, un horno de columna, un detector de matriz de diodos equipado con una celda de flujo de alta presión de hasta 400 bar. Los detalles de SFC analítica se proporcionan a continuación

en la Tabla 4, Si se configuró con un espectrómetro de masas (MS), el flujo de la columna se llevó al (MS). Está dentro del conocimiento del experto en la técnica establecer los parámetros de calibración (p. ej., rango de exploración, tiempo de permanencia...) para obtener iones que permitan la identificación del peso molecular (PM) monoisotópico nominal del compuesto. La adquisición de datos se realizó con el software adecuado.

**Tabla 4 - Detalles analíticos de la SFC**

| Código del método | Columna                                                    | Fase móvil                                            | Gradiente                                                                                         | Flujo | Tiempo de ejecución |
|-------------------|------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|---------------------|
|                   |                                                            |                                                       |                                                                                                   | Col T | BPR                 |
| 11                | Waters UPCC con PDA (Chiralpak IG-3 100×4,6 mm I.D., 3 µm) | A: CO <sub>2</sub> supercrítico, B: EtOH (0,05 % DEA) | de 5 % a 40 % de B en 4 min y mantenido a 40 % durante 2,5 min, después 5 % de B durante 1,5 min; | 2,8   | 8                   |
|                   |                                                            |                                                       |                                                                                                   | 35    | 1500 psi            |

Flujo expresado en ml/min; temperatura de la columna (T) en °C; tiempo de ejecución en minutos, contrapresión (BPR) en barras o libra-fuerza por pulgada cuadrada (psi). “ACN” significa acetonitrilo; “MeOH” significa metanol; “EtOH” significa etanol; “DEA” significa dietilamina. Todas las demás abreviaturas usadas en la Tabla 4 anterior son como se definieron anteriormente.

## Parte farmacológica

### 1) Ensayo de fluorescencia resuelta en el tiempo homogénea (HTRF) de menina/MLL

A una placa de microtitulación de 384 pocillos blanca no tratada se añadió 40 nL de compuesto de prueba 200 x en DMSO y 4 µL de menina etiquetada con quelato de terbio 2X (ver abajo para la preparación) en regulador de ensayo (40 mM de Tris·HCl, pH 7,5, 50 mM de NaCl, 1 nM de DTT (ditiotretol) y 0,05 % de Pluronic F-127). Tras incubar el compuesto de prueba y la menina etiquetada con quelato de terbio durante 30 min a temperatura ambiente, se añadió 4 µL de péptido 2X FITC-MBM1 (FITC-β-alanina-SARWRFPARPGT-NH<sub>2</sub>) (“FITC significa isotiocianato de fluoresceína) en regulador de ensayo, se centrifugó la placa de microtitulación a 1000 rpm durante 1 min

y se incubaron las mezclas de ensayo durante 15 min a temperatura ambiente. La cantidad relativa de complejo menina-FITC-MBM1 presente en una mezcla de ensayo se determina al medir la fluorescencia resuelta en el tiempo homogénea (HTRF) del par de terbio/ donante FITC/ aceptador usando un lector de microplacas EnVision (ex. 5 337 nm/terbio em. 490 nm/FITC em. 520 nm) a temperatura ambiente. El grado de transferencia de energía de resonancia de fluorescencia (el valor HTRF) se expresa como la relación de las intensidades de emisión de fluorescencia de los fluoróforos FITC y terbio ( $F^{em} 520 \text{ nm}/F^{em} 490 \text{ nm}$ ). Las concentraciones finales de reactivos en el ensayo de unión son 200 pM de menina etiquetada con quelato de terbio, 75 nM de péptido 10 FITC-MBM1 y 0,5 % de DMSO en regulador de ensayo. Las titulaciones dosis-respuesta de los compuestos de prueba se llevan a cabo usando un esquema de dilución cuádruple en serie de 11 puntos, que comienza típicamente a 10  $\mu\text{M}$ .

Las potencias de los compuestos se determinaron al calcular primero el % de inhibición en cada concentración del compuesto de acuerdo con la ecuación 1:

15

$$\% \text{ de inhibición} = (((\text{HC} - \text{LC}) - (\text{HTRF}^{\text{compuesto}} - \text{LC})) / (\text{HC} - \text{LC})) * 100 \text{ (Ecu. 1)}$$

donde LC y HC son los valores de HTRF del ensayo en presencia o ausencia de una concentración de saturación de un compuesto que compite con FITC-MBM1 para la fijación a menina, y  $\text{HTRF}^{\text{compuesto}}$  es el valor de HTRF medido en presencia del 20 compuesto de prueba. Los valores de HC y LC de HTRF representan un promedio de al menos 10 réplicas por placa. Para cada compuesto de prueba, se graficaron los valores del % de inhibición vs. el logaritmo de la concentración del compuesto de prueba, y el valor  $\text{IC}_{50}$  se derivó del ajuste de estos datos a la ecuación 2:

$$\% \text{ de inhibición} = \text{Inferior} + (\text{Superior} - \text{Inferior}) / (1 + 10^{((\log IC_{50} - \log [cmpd]) * h)}) \quad (Ecu. 2)$$

donde la parte inferior y la parte superior son las asíntotas inferior y superior de la curva de dosis-respuesta, respectivamente,  $IC_{50}$  es la concentración del compuesto que produce 50 % de inhibición de la señal y  $h$  es el coeficiente de Hill.

Preparación del marcado con criptato de terbio de menina: La menina (a.a 1-610-6xhis tag, 2,3 mg/ml en 20 mM de Hepes (ácido sulfónico 2-[4-(2-Hidroxietil)-1-piperazinil]de etano), 80 mM de NaCl, 5 mM de DTT (Ditiotreitol), pH 7,5) se marcó con criptato de terbio de la siguiente manera. 200  $\mu$ g de la menina se intercambió en regulador en un regulador Hepes 1x. Se incubó 6,67  $\mu$ M de la menina con un exceso molar de 8 veces NHS (N-hidroxisuccinimida)-criptato de terbio durante 40 minutos a temperatura ambiente. La mitad de la proteína etiquetada se purificó y se separó de la etiqueta libre haciendo pasar la reacción por una columna NAP5 con regulador de elución (0,1 M Hepes, pH 7 + BSA 0,1 % (albúmina sérica bovina)). La otra mitad se eluyó con solución salina reguladora de fosfato (PBS, por sus siglas en inglés) 0,1 M, pH 7. Se recolectaron 400  $\mu$ l de eluyente para cada uno, se tomaron alícuotas y se congelaron a -80 °C. La concentración final de la proteína de la menina etiquetada con terbio fue 115  $\mu$ g/ml en regulador Hepes y 85  $\mu$ g/ml en regulador PBS, respectivamente.

*Secuencia de la proteína MENINA (sec. con núm. de ident.: 1):*

MGLKAAQKTLFPLRSIDDVRLFAAELGREEPDLVLLSLVLGFVEHFLAVNRVIP  
TNVPELTFQPSPAPDPPGGLTYFPVADLSIIAALYARFTAQIRGAVDLSLYPREGGVSS  
RELVKKVSDVIWNSLSRSYFKDRAHIQSLFSFITGTKLDSSGVAFAVVGACQALGLRD  
VHLALSEDHAWVVFGPNGEQTAEVTVHKGKGNEDRRGQTVNAGVAERSWLYLKGSY

MRCDRKMEVAFMVCAINPSIDLHTDSLELLQLQQKLLWLLYDLGHLERYPMALGNLAD  
 LEELEPTPGRPDPLTYHKGIASAKTYRDEHIYPYMYLAGYHCRNRNVREALQAWA  
 DTATVIQDYNCREDEEIYKEFFEVDVNPVLLKEAASLLEAGEERPGEQSQGTQSQ  
 GSALQDPECFAHLLRFYDGICKWEEGSPTPVLHVGVWATFLVQSLGRFEGQVRQKVRI  
 5 VSREAEEAAEAEPPWGEEAREGRRRGPRRESKPEEPPPPKKPALDKGLGTGQGAVS  
 GPPRKPPGTVAGTARGPEGGSTAQVPAPAASPPPEGPVLTQSEKMKGMKELLVAT  
 KINSSAIKLQLTAQSQVQMKKQKVSTPSDYTLSFLKRQRKGLHHHHHH

## 2a) Ensayo de proliferación

10 El efecto antiproliferativo de los compuestos de prueba del inhibidor de la interacción  
 menina/proteína MLL/proteína se evaluó en líneas celulares de leucemia humana. La línea  
 celular MOLM-14 porta una translocación de MLL y expresa la proteína de fusión de MLL  
 MLL-AF9, respectivamente, así como la proteína de tipo silvestre del segundo alelo.  
 También se analizaron células OCI-AML3 portadoras de la mutación del gen NPM1c. Las  
 15 líneas celulares redispuestas de MLL (p. ej., MOLM-14) y líneas celulares mutadas NPM1c  
 exhiben rúbricas de expresión génica HOXA/MEIS1 elevada tipo células madre. KO-52 se  
 usó como una línea celular de control que contenía dos alelos de tipo silvestre *MLL*  
*(KMT2A)* para excluir compuestos que muestran efectos citotóxicos generales.

Las células MOLM-14 se propagaron en RPMI-1640 (Sigma Aldrich)  
 20 suplementado con 10 % de suero fetal bovino inactivado con calor (HyClone), 2 mM de  
 L-glutamina (Sigma Aldrich) y 50 µg/ml de gentamicina (Gibco). Las líneas celulares  
 KO-52 y OCI-AML3 se propagaron en alfa-MEM (Sigma Aldrich) suplementado con  
 20 % de suero fetal bovino inactivado por calor (HyClone), 2 mM de L-glutamina (Sigma

Aldrich) y 50 µg/ml de gentamicina (Gibco). Las células se mantuvieron a 0,3 - 2,5 millones de células por ml durante el cultivo y el número de conductos no superó los 20.

Para evaluar los efectos antiproliferativos, 200 células MOLM-14, 200 células OCI-AML3 o 300 KO-52 células se sembraron en 200 µl de medio por pocillo en placas de unión ultrabaja de fondo redondo de 96 pocillos (Costar, número de catálogo 7007). Las cantidades de sembrado de células se eligió en base a las curvas de crecimiento para asegurar el crecimiento lineal durante todo el experimento. Los compuestos de prueba se añadieron a diferentes concentraciones y el contenido de DMSO se normalizó a 0,3 %. Las células se incubaron durante 8 días a 37 °C y 5 % de CO<sub>2</sub>. El crecimiento en forma de esferoide se midió en tiempo real mediante imágenes de células vivas (IncuCyteZOOM, Essenbio, objetivo 4x) adquiriendo imágenes en el día 8. La confluencia (%) como una medida del tamaño de esferoide se determinó usando una herramienta de análisis integrada.

Para determinar el efecto de los compuestos de prueba a lo largo del tiempo, se calculó la confluencia en cada pocillo como una medida del tamaño del esferoide. La confluencia de la dosis más alta de un compuesto de referencia se usó como valor de referencia para el LC (Control bajo) y la confluencia de las células tratadas con DMSO se usó como citotoxicidad del 0 % (Control alto, HC).

Los valores absolutos de IC<sub>50</sub> se calcularon como porcentaje de cambio en la confluencia de la siguiente manera:

LC = control bajo: células tratadas con, p. ej., 1 µM del agente citotóxico estaurosporina o, p. ej., células tratadas con una alta concentración de un compuesto de referencia alternativo;  
 HC = control alto: Confluencia media (%) (células tratadas con DMSO);  
 $\% \text{ de efecto} = 100 - (100 * (\text{muestra} - \text{LC}) / (\text{HC} - \text{LC}));$  y

Se usó GraphPad Prism (versión 7.00) para calcular la IC<sub>50</sub>. La ecuación dosis-respuesta se usó para graficar el % de Efecto vs. la concentración Log10 del compuesto con una pendiente variable y fijando el máximo en el 100 % y el mínimo en el 0 %.

## 5 2b) Ensayo de expresión de ARNm MEIS1

La expresión de ARNm MEIS1 tras el tratamiento del compuesto se examinó mediante el ensayo Quantigene Singleplex (Thermo Fisher Scientific). Esta tecnología permite la cuantificación directa de las dianas de ARNm usando sondas que hibridan con secuencias diana definidas de interés y la señal se detecta usando un lector de placas multimodo Envision (PerkinElmer). La línea celular MOLM-14 se usó para este experimento. Las células se sembraron en placas de 96 pocillos a 3,750 células/pocillo en la presencia de concentraciones crecientes de compuestos. Después de la incubación de 48 horas con compuestos, las células se lisaron en regulador de lisis y se incubaron durante 45 minutos a 55 °C. Los lisados celulares se mezclaron con la sonda de captura específica MEIS1 humana o con la sonda específica RPL28 (proteína ribosómica L28) humana como un control de normalización, así como con sondas de bloqueo. Después, los lisados celulares se transfirieron a la placa de hibridación de ensayo personalizada (Thermo Fisher Scientific) y se incubaron durante 18 a 22 horas a 55 °C. Posteriormente, las placas se lavaron para eliminar los materiales no unidos seguido de la adición secuencial de preamplificadores, amplificadores y sonda de etiqueta. Las señales (= recuentos de genes) se midieron con un lector de placas multimodo Envision. Los IC<sub>50</sub> se calcularon mediante modelos dosis-respuesta usando el software adecuado. Para todas las respuestas de genes no domésticas, conteos iguales corregidos para el fondo y la expresión relativa. Para cada muestra, la señal de cada gen de prueba (fondo sustraído)

se dividió por la señal del gen de normalización (RPL28: fondo sustraído). Los cambios en los pliegues se calcularon al dividir los valores normalizados de las muestras tratadas por los valores normalizados de la muestra tratada con DMSO. Los cambios en los pliegues de cada gen diana se usaron para el cálculo de las IC<sub>50</sub>.

5 Los resultados se abrevian a continuación en la Tabla 5.

**Tabla 5 - Datos biológicos - Ensayos de HTRF, proliferación y expresión de ARNm MEIS1**

| Número del compuesto | HTRF-30 min de incubación IC <sub>50</sub> (nM) | MEIS1 IC <sub>50</sub> (μM) | spheroid assay_OneTime MOLM-14 IC <sub>50</sub> (μM) | OCI-AML3 IC <sub>50</sub> (μM) | spheroid assay_OneTime KO-52 IC <sub>50</sub> (μM) |
|----------------------|-------------------------------------------------|-----------------------------|------------------------------------------------------|--------------------------------|----------------------------------------------------|
| 11                   | 0,11                                            | 0,018                       | 0,021                                                | 0,21                           | 8,38                                               |
| A                    | 0,09                                            | 0,02                        | 0,021                                                | 0,091                          | 6,85                                               |
| A3                   | 0,098                                           | 0,017                       | 0,017                                                | 0,12                           | 7,75                                               |
| A1                   | 0,18                                            | 0,017                       | 0,011                                                | 0,08                           |                                                    |

10

### 3) PK de ratón ( $T_{1/2}$ in vivo y biodisponibilidad oral)

Se evaluó la farmacocinética (PK) in vivo en ratones macho CD-1 en ayunas (edad 6-8 semanas) después de una dosis intravenosa única (IV, 0,5 o 1,0 mg/kg administrada a 2,5 ml/kg) o por vía oral (PO, 5 mg/kg administrado a 10 ml de solución/kg) del artículo de prueba formulado en una solución de 20 % HP-β-CD (p:vol) o en agua libre de pirógeno.

15

Se recolectaron muestras de plasma y/o sangre completa de la vena metatarsal dorsal en puntos de tiempo deseados mediante micromuestreo capilar en serie (aproximadamente 0,03 ml) usando EDTA como un anticoagulante. Las concentraciones del compuesto en las muestras de plasma y sangre se analizaron usando un método LC-

MS/MS calificado. El análisis *in silico* de los parámetros farmacocinéticos principales se realizó usando WinNonlin (Phoenix<sup>TM</sup>, versión 6.1) o un software similar)

#### 4) Estabilidad metabólica en microsomas de hígado humano/de ratón

##### 5 Procedimiento experimental

El objetivo de este estudio es medir la estabilidad metabólica *in vitro* del (de los) compuesto(s) de prueba en microsomas hepáticos humanos y de ratón y proporciona información cuantitativa sobre la tasa de recambio metabólico (es decir, determinación de la depuración intrínseca aparente de la prueba).

10 Los elementos de prueba se prepararon a una concentración madre de 10 mM en DMSO. Para la determinación del recambio metabólico, se preparó una solución de trabajo final mediante la adición de 2 µl de solución madre de DMSO de 10 mM para el compuesto de prueba o compuestos de control positivo a 198 µl de acetonitrilo (concentración final de 100 µM).

15 Las incubaciones se realizaron de la siguiente manera: Primero, se descongelaron microsomas hepáticos en hielo y se preparó una solución maestra que contenía microsomas hepáticos en PBS 100 mM (solución salina regulada con fosfato) a pH 7,4. A continuación, la solución de microsomas hepáticos se añadió a las placas de incubación y se añadió NADPH 10 mM (nicotinamida-adenina dinucleótido fosfato) (MW: 833,4 g/mol; Roche  
20 Diagnostics GmbH, Alemania. Disuelto en regulador de fosfato (100 mmol/l, pH 7,4). La mezcla se mezcló durante 10 segundos y se precalentó en la placa de incubación a 37 °C durante 10 minutos. La reacción metabólica se inició con la adición de 5 µl de la solución de trabajo de 100 µM para el compuesto de prueba o compuestos de control positivo a la placa de incubación (concentración final del artículo de prueba = 1 µM). La mezcla final de reacción

debe contener 1 mM de NADPH, 0,5 mg/ml de proteína de microsomas y 1  $\mu$ M de compuesto de prueba o compuesto de control positivo en PBS de 100 mM a pH 7,4, El porcentaje de solvente orgánico en la mezcla de incubación es 1 % con DMSO  $\leq$  0,02 %.

La reacción se inactivó mediante la transferencia de 50  $\mu$ l de la mezcla incubada en puntos de tiempo seleccionados en la placa de inactivación que contenía 200  $\mu$ l de metanol frío. Después del muestreo de todos los puntos de tiempo, la placa de inactivación se centrifugó a 4000 rpm durante 40 minutos para precipitar la proteína. Un total de 90  $\mu$ l del sobrenadante se transfirió a una placa de análisis y se añadió agua H<sub>2</sub>O ultra pura en cada pocillo para el análisis de LC/MS/MS. Todas las incubaciones y análisis se realizaron por duplicado.

#### *Análisis de datos*

Todos los cálculos se llevaron a cabo usando Microsoft Excel. El valor de la pendiente, k, se determinó por regresión lineal del logaritmo natural del porcentaje restante del fármaco original en comparación con la curva de tiempo de incubación. Los resultados se abrevian más abajo en la Tabla 6.

La vida media in vitro ( $t_{1/2}$  *in vitro*) se determinó a partir del valor de la pendiente

$$t_{1/2} \text{ in vitro} = -(0,693/k)$$

Conversión del  $t_{1/2}$  in vitro (en min) en la depuración intrínseca *in vitro* ( $CL_{int}$  *in vitro* en las proteínas  $\mu$ l/min/mg) se realizó usando la siguiente ecuación:

$$in\ vitro\ Cl_{int} = \left(\frac{0,693}{t_{\frac{1}{2}}}\right) * \left(\frac{\text{volumen de incubación } (\mu l)}{\text{cantidad de proteínas (mg)}}\right)$$

**Tabla 6 - PK de ratón y estabilidad metabólica**

| Número de ejemplo | Agente de formulación  | T <sub>1/2</sub> in vivo (IV) (h) | Biodisponibilidad (PO) (%) | Clint LM humano (μl/min/mg) | Clint LM de ratón (μl/min/mg) |
|-------------------|------------------------|-----------------------------------|----------------------------|-----------------------------|-------------------------------|
| <b>A</b>          | HP-β-CD                | <b>6,7</b>                        | <b>17</b>                  | <b>19</b>                   | <b>&lt;7,5</b>                |
| <b>A3</b>         | Agua libre de pirógeno | <b>9,0</b>                        | <b>34</b>                  | <b>19</b>                   | <b>&lt;7,5</b>                |
| 11                | HP-β-CD                | <b>NA</b>                         | <b>NA</b>                  | <b>14</b>                   | <b>&lt;7,5</b>                |

5 “NA” significa no analizado

*5) Protocolo para la actividad farmacodinámica (PD) en xenoinjertos subcutáneos (SC o SC) de células MOLM-14 o OCI-AML3*

*Agentes de prueba y controles*

10 El Compuesto **A3** se formuló en hidroxipropil-beta-ciclodextrina al 20 % (HP-β-CD) y se preparó para alcanzar un volumen total de 0,2 ml (10 ml/kg) por dosis para un animal de 20 g. Las dosis se ajustaron por peso corporal individual cada día. Soluciones de trabajo del Compuesto **A3** se prepararon una vez por semana para cada estudio y se almacenaron a temperatura ambiente. El Compuesto **A3** se administró por vía oral (PO), diariamente.

15

*Ensayo*

La actividad farmacodinámica (PD) *in vivo* de los compuestos se evaluó en xenoinjertos subcutáneos (SC) de células MOLM-14 o células OCI-AML3. Se trataron ratones atímicos NMRI (CrI:NMRI-Foxn1nu/-) que portan los tumores MOLM-14 o OCI-  
20 AML3 con 3 dosis diarias de vehículo o compuestos. Las muestras de plasma se

recolectaron a las 23 horas después de la dosis del día 2, 0,5 horas después de la dosis final, y 16 horas después de la dosis final y se recolectaron las muestras de tumor 16 horas después de la dosis final. Para examinar los efectos de los compuestos en la expresión de múltiples genes diana de Menina-KMT2A (p. ej., *MEIS1*, *MEF2C*, *FLT3*) se usó la tecnología QuantiGene Plex (Thermo Fisher Scientific). Los tumores congelados se homogeneizaron y transfirieron a tubos de matriz de lisado individuales en regulador de lisis y se incubaron durante 30 minutos a 55 °C. Los lisados celulares se mezclaron con sondas de captura específicas de diana, microesferas Luminex y sondas de bloqueo, se transfirieron a la placa de hibridación de ensayo personalizado (Thermo Fisher Scientific) y se incubaron durante 18 a 22 horas a 54 °C. Posteriormente, las placas se transfirieron a una placa de separación magnética y se lavaron para eliminar los materiales no unidos de las microesferas seguido de hibridación secuencial de preamplificadores, amplificadores y sonda de etiqueta y posterior unión de estreptavidina ficoeritrina. Las señales de las microesferas se midieron con un instrumento tridimensional Luminex FlexMap. Para todas las respuestas de genes no domésticas, conteos iguales corregidos para el fondo y la expresión relativa. Para cada muestra, cada señal del gen de prueba (sustraído del fondo) se dividió por la señal del gen de normalización (RPL19, RPL28, ATP6 V1A: sustraído del fondo). Los cambios en los pliegues se calcularon al dividir los valores normalizados de las muestras tratadas por los valores normalizados de la muestra tratada con DMSO. Los resultados se abrevian a continuación en las Tablas 7 y 8.

**Tabla 7 - Nivel de expresión (% relativo al vehículo) de genes seleccionados del Modelo de MOLM-14 SC (valores medios y desviaciones estándar)**

| Compuesto A3 (mg/kg) | <i>MEIS1</i>   | <i>FLT3</i>    | <i>MEF2C</i>   |
|----------------------|----------------|----------------|----------------|
| 0                    | 101,30 ± 15,06 | 104,80 ± 10,07 | 103,50 ± 11,02 |
| 3                    | 83,49 ± 25,48  | 78,67 ± 20,74  | 85,50 ± 22,77  |
| 10                   | 62,84 ± 4,06   | 74,91 ± 8,97   | 68,04 ± 14,43  |
| 30                   | 23,16 ± 2,75   | 52,61 ± 4,51   | 27,83 ± 2,17   |
| 50                   | 14,40 ± 3,39   | 36,14 ± 3,50   | 18,75 ± 2,38   |
| 100                  | 10,97 ± 3,21   | 35,82 ± 1,10   | 14,18 ± 1,56   |

5 **Tabla 8 - Nivel de expresión (% relativo al vehículo) de genes seleccionados del modelo OCI-AML3 SC (valores medios y desviaciones estándar).**

| Compuesto A3 (mg/kg) | <i>MEIS1</i>  |
|----------------------|---------------|
| 0                    | 100,30 ± 8,53 |
| 3                    | 87,90 ± 39,75 |
| 10                   | 48,81 ± 15,30 |
| 30                   | 32,66 ± 3,71  |
| 50                   | 23,83 ± 1,34  |
| 100                  | 16,76 ± 1,92  |

Las Tablas 7a y 8a muestran valores medios basados en experimentos repetidos en condiciones optimizadas con muestras de tumor frescas.

**Tabla 7a-Nivel de expresión (% relativo al vehículo) de genes seleccionados del modelo de MOLM-14 SC (valores medianos y desviaciones estándar).**

| Compuesto A3 (mg/kg) | <i>MEIS1</i> | <i>FLT3</i>  | <i>MEF2C</i> |
|----------------------|--------------|--------------|--------------|
| 0                    | 100,0 ± 13,5 | 100,0 ± 10,1 | 100,0 ± 11,0 |

|     |             |             |             |
|-----|-------------|-------------|-------------|
| 3   | 83,7 ± 22,8 | 89,2 ± 20,7 | 87,7 ± 22,8 |
| 10  | 49,3 ± 5,9  | 79,8 ± 9,0  | 64,6 ± 14,4 |
| 30  | 14,7 ± 3,9  | 54,5 ± 4,5  | 28,8 ± 2,2  |
| 50  | 4,7 ± 1,1   | 37,6 ± 3,5  | 18,8 ± 2,4  |
| 100 | 3,3 ± 1,4   | 35,4 ± 1,1  | 13,6 ± 1,6  |

**Tabla 8a - Nivel de expresión (% relativo al vehículo) del gen seleccionado del modelo de OCI-AML3 SC (valores medianos y desviaciones estándar).**

| Compuesto A3 (mg/kg) | <i>MEIS1</i> |
|----------------------|--------------|
| 0                    | 100,0 ± 11,2 |
| 3                    | 71,2 ± 15,1  |
| 10                   | 26,5 ± 4,3   |
| 30                   | 25,1 ± 11,2  |
| 50                   | 8,5 ± 2,2    |
| 100                  | 9,4 ± 1,2    |

5

#### 6) Estudio de eficacia en el modelo subcutáneo MOLM-14

##### *Agentes de prueba y controles*

El Compuesto **A3** se formuló en hidroxipropil-beta-ciclodextrina al 20 % (HP-β-CD) y se preparó para alcanzar un volumen total de 0,2 ml (10 ml/kg) por dosis para un animal de 20 g. Las dosis se ajustaron por peso corporal individual cada día. Soluciones madre de trabajo del Compuesto **A3** se prepararon una vez por semana para cada estudio y se almacenaron a 25 °C.

10

##### *Animales*

Se usaron ratones atímicos hembra NMRI (MOLM-14 SC) cuando tenían aproximadamente 6 a 8 semanas de edad y pesaban aproximadamente 25 g. Todos los animales pudieron aclimatarse y recuperarse de cualquier estrés relacionado con el envío

15

durante un mínimo de 7 días antes del uso experimental. Se proporcionó agua esterilizada en autoclave y alimento irradiado a demanda y los animales se mantuvieron en un ciclo de 12 horas de luz y oscuridad. Las jaulas, lechos y botellas de agua se esterilizaron en autoclave antes del uso y se cambiaron semanalmente. A continuación se proporcionan detalles adicionales en la Tabla 9.

**Tabla 9 - Reactivos de inyección de células y cultivo tisular**

|                                                         |
|---------------------------------------------------------|
| DPBS (Solución salina regulada con fosfato de Dulbecco) |
| Suero bovino fetal inactivado por calor                 |
| Medio RPMI 1640                                         |
| L-glutamina                                             |
| Gentamicina                                             |
| Matraz de cultivo T175                                  |
| Botellas rotatorias                                     |

#### 10 *Método del modelo de tumor y cultivo celular*

Células humanas AML MOLM-14 se cultivaron a 37 °C, 5 % de CO<sub>2</sub> en el medio de cultivo completo indicado (RPMI 1640 + 10 % HI-FBS + 2 mM L-glutamina + Gentamicina de 50ug/ml). Las células se recolectaron mientras estaban en crecimiento logarítmico y se volvieron a suspender en el medio libre de suero frío (4 °C) Roswell Park Memorial Institute (RPMI)1640.

Cada ratón recibió 5×10<sup>6</sup> células MOLM-14 en Matrigel al 50 % en el flanco derecho, en un volumen total de 0,2 ml usando una jeringa de 1 cc y una aguja de calibre 27.

### *Diseños de estudio*

El Compuesto **A3** se administró por vía oral (PO), diariamente.

El día 0 es el día de la implantación de las células tumorales y el inicio del estudio.

Los ratones que portan tumores SC MOLM-14 se aleatorizaron el Día 16 después de la implantación del tumor y se asignaron a grupos de tratamiento de acuerdo con el volumen tumoral (media de  $\sim 130 \text{ mm}^3$ ;  $n = 10/\text{grupo}$ ). Tratamiento con vehículo o Compuesto **A3** (a 30 y 100 mg/kg) se inició el mismo día, con administración oral diaria durante 21 días. El plasma se recolectó 1, 2, 4, 8 y 23 horas después de la última dosis ( $n = 4\text{-}5/\text{grupo/punto temporal}$ ) para el análisis PK (farmacocinética).

10

### *Monitoreo de animales*

Se midió el volumen de tumor SC para cada animal 2 a 3 veces por semana o más durante todo el estudio.

### 15 *Cálculos*

El volumen tumoral se calculó con la fórmula:

Volumen tumoral ( $\text{mm}^3$ ) =  $(D \times d^2/2)$ ; donde 'D' representa el diámetro más grande, y 'd' el diámetro más pequeño del tumor según lo determinado por las mediciones de calibre. Los datos del volumen tumoral se graficaron como el volumen tumoral medio  $\pm$  SEM.

20 El % de  $\Delta\text{TGI}$  se definió como la diferencia entre la carga tumoral media del grupo de tratamiento y de control, calculado como % de  $\Delta\text{TGI} = [(TV_c - TV_{c0}) / (TV_t - TV_{t0})] / (TV_c - TV_{c0}) \times 100$ , donde 'TVc' es la carga tumoral media de un grupo de control dado, 'TVc<sub>0</sub>' es la carga tumoral media inicial de un grupo de control

dado, 'TV<sub>t</sub>' es la carga tumoral media del grupo de tratamiento, y 'TV<sub>t0</sub>' es la carga tumoral media inicial del grupo de tratamiento. El % TGI se definió como la diferencia entre.

Los volúmenes tumorales medios de los grupos tratados y de control, calculados como:

- 5    %TGI=((TV<sub>c</sub>TV<sub>t</sub>)/TV<sub>c</sub>)×100 en donde 'TV<sub>c</sub>' es el volumen tumoral medio de un grupo de control y 'TV<sub>t</sub>' es el volumen medio del tumor del grupo de tratamiento. Como se define por los criterios del Instituto nacional del cáncer, ≥ 60 % de TGI se considera biológicamente significativa.

10    El % de regresión de tumor (TR), cuantificado para reflejar la reducción relacionada con el tratamiento del volumen tumoral en comparación con el valor inicial independiente del grupo de control, se calculó como %TR = (1-media (TV<sub>ti</sub>/TV<sub>t0i</sub>)) x 100 donde "TV<sub>ti</sub>" es la carga tumoral de animales individuales en un grupo de tratamiento, y "TV<sub>t0i</sub>" es la carga tumoral inicial del animal.

## 15    *Análisis de datos*

Los volúmenes tumorales se graficaron usando el software Prism (GraphPad versión 7 u 8). La significación estadística para la mayoría de los estudios se evaluó para los grupos tratados con el Compuesto **A3** en comparación con los controles tratados con vehículo HPβCD el último día del estudio cuando 2/3 o más ratones permanecieron en  
20    cada grupo. Las diferencias entre grupos se consideraron significativas cuando p≤0,05.

La significancia estadística para el volumen de tumor del animal se calculó usando el análisis de efectos mixtos lineales (LME) en la versión 3.4.2 del software R (usando la aplicación Shiny desarrollada internamente por Janssen, versión 4.0), con el tratamiento y el

tiempo como efectos fijos y el animal como efecto aleatorio. La transformación logarítmica se realizó si las trayectorias de respuesta longitudinal individuales no eran lineales.

La información derivada de este modelo se usó para realizar comparaciones de tratamientos por pares de volúmenes tumorales animales con el grupo de control o entre todos los grupos de tratamiento. Los resultados se muestran en la Figura 2.

*7) Efectos cardiovasculares-electrofisiológicos de los compuestos de prueba en los cardiomiocitos derivados de células madre pluripotentes humanas (hSC-CM) sincrónicamente que usan un Ensayo de fluorescencia  $Ca^{2+}$  (CTCM humano)*

#### *Protocolo*

Los compuestos se probaron en las placas de 96 pocillos.

Los compuestos se probaron a 0,1  $\mu$ m, 0,2  $\mu$ m, 0,5  $\mu$ m, 1  $\mu$ m, 2,5  $\mu$ m y 5  $\mu$ m (n = 4 por dosis) en los cardiomiocitos Cor.4U® o en los cardiomiocitos 2 iCell®.

Alternativamente, los compuestos se probaron a 0,1  $\mu$ m, 0,3  $\mu$ m; 1  $\mu$ M, 3  $\mu$ M, 10  $\mu$ M y 30  $\mu$ M (n = 4 por dosis) principalmente en los cardiomiocitos iCell®.

#### Controles positivos y negativos

|               |              |
|---------------|--------------|
| Dofetilida    | a 3 nM       |
| Isoproterenol | a 100 nM     |
| Nimodipino    | a 100-300 nM |
| Cetiricina    | a 3 $\mu$ M. |

Control de vehículo: Dimetilsulfóxido (DMSO). Las soluciones del compuesto en DMSO o su solvente (concentración final de 0,1 % de DMSO; n = 8).

### *Preparación del artículo de prueba y controles*

Los compuestos analizados se disolvieron en DMSO a concentraciones 1000 veces superiores a las previstas. Se preparó una “placa madre” del compuesto, que contenía los compuestos de prueba y controles positivos y negativos a 1000 veces las concentraciones finales. En el día del experimento, estas soluciones madre se diluyeron con Tyrode (Sigma), se suplementaron con 10 mM de HEPES (Gibco), hasta 2 veces la concentración prevista (en placas de compuesto de fondo redondo). La concentración final de DMSO en las soluciones de prueba y el control del vehículo fue de 0,1 %.

### 10 *Células*

Los hSC-CM (cardiomicitos Cor.4U®) se obtuvieron de CDI (Ncardia, Alemania). Las células se colocan previamente en placas y se siembran en placas de 96 pocillos recubiertas con fibronectina a una densidad adecuada para formar una monocapa y se mantienen en cultivo en una incubadora de etapas (37 °C, 5 % de CO<sub>2</sub>), de acuerdo con las instrucciones del proveedor de células.

Los cardiomiocitos derivados de hSC de segunda línea denominados cardiomicitos 2 iCell® se adquirieron a FUJIFILM Cellular Dynamics (EE. UU.). Los experimentos con fármacos de prueba se llevan a cabo de 5 a 7 días después de la colocación en placas de las células sobre la placa para tener una monocapa viva latiendo de cardiomiocitos derivados de hiPSC. La monocapa de microesferas en placas de 96 pocillos se toma normalmente de 2 viales de cardiomiocitos 2 congelados iCell® (~5 millones de células/vial), que se sembrarán sobre tres placas de 96 pocillos (~50 K/pocillo).

### *Antes de iniciar el experimento*

Al menos una hora antes del inicio de los experimentos, se sustituyó el medio celular normal por solución de Tyrode con tinte de calcio (ver más abajo).

El tinte Cal 520 (AAT Bioquest) se disolvió en 11 ml de Tyrode suplementado con 10 mM de HEPES y se calentó a 37 °C antes de añadirlo a las células.

Se eliminó 35 µl de medio de cultivo celular de cada pocillo y se sustituyeron por 35 µl de solución de tinte Cal 520 precalentada y se incubó la placa celular durante 45 min a 37 °C/CO<sub>2</sub> al 5 %. Las células se incubaron durante 5 min a 37 °C.

### 10 *Experimento*

Se registra la actividad eléctrica espontánea, usando señalización de fluorescencia-tinte de calcio Cal520™ (AAT Bioquest). Este tinte integra la actividad total de calcio intracelular en todo el pocillo. Una botella de tinte Cal520 (50 µg, pM: 1103/mol) se disuelve con 50 µl de DMSO como una solución madre de 0,9 mM. Se añadieron 50 µl de la solución madre del tinte a 10 ml de solución Tyrodes para tener una concentración de tinte de 4,5 µM. Posteriormente, se añadieron 35 µl de esta solución de tinte a cada pocillo, para tener una concentración de tinte final de 1,58 µM. El protocolo de tinte actual en este ensayo de CTCM humano se estableció recientemente (Ivan Koplfrasco et al., Journal of Pharmacological and toxicological methods 2018, 91: 80-86; Lu et al., Tox Sci 2019. 170 (2): 345-356).

Las señales fluorescentes (morfología de los transitorios de Ca<sup>2+</sup>) se midieron usando el Sistema funcional de detección de drogas (FDSS/µCell; Hamamatsu, Japón) y los registros se analizaron posteriormente fuera de línea usando un software apropiado, p. ej., Notocord.

La placa de células se cargó en el FDSS/ $\mu$ Cell para realizar una prueba: Los tránsitos de  $\text{Ca}^{2+}$  se midieron durante 4 minutos para verificar el latido sincrónico de los cardiomiocitos en cada pocillo. Todos los 96 pocillos se midieron simultáneamente (intervalo de muestreo: 0,06 s, tiempo de exposición corto: 10 ms; longitud de onda de excitación 480 nm; longitud de onda de emisión 540 nm; DSS/ $\mu$ Cell calentada a 37 °C). Cuando todas mostraron latido sincrónico, la placa de 96 pocillos se midió repetidamente durante 3 veces (para verificar el latido sincrónico en todos los 96 pocillos al inicio, los pocillos que no cumplieron con los criterios preestablecidos se excluyeron del estudio y no se trataron con el compuesto):

T = 0: período de control (-5 a -1 min) + adición de compuesto, seguido de 3 min.

T = 30: medido de 29 a 34 min después de la adición del compuesto

Durante la etapa de adición del compuesto, se pipetearon simultáneamente 100  $\mu\text{l}$  de las respectivas soluciones de prueba doblemente concentradas en cada pocillo.

Los datos se analizaron fuera de línea usando el software adecuado, p. ej., Notocord-Hem (versión 4.3).

Se midieron los siguientes parámetros de la morfología del transitorio de  $\text{Ca}^{2+}$ :

- velocidad de latido (BR)
- amplitud del tránsito de  $\text{Ca}^{2+}$  (Amp),
- CTD<sub>90</sub>: Duración transitoria de  $\text{Ca}^{2+}$  al 90 % (tiempo hasta el 90 % del valor de base inicial).

También se observó la presencia de diversas actividades ‘arrítmicas’ durante los periodos experimentales. Estos incluyeron:

- Eventos ‘*similares a después de despolarización temprana*’ (similar a EAD) eventos (definidos como ‘un pico extra pequeño de la forma de onda transitoria después del pico inicial del tránsito’),

- Eventos '*similares a taquicardia ventricular*' (similar a VT) (definidos como una velocidad de latidos muy rápida) o
- Eventos '*similares a fibrilación ventricular*' (similar a VF) (definidos como "pequeña amplitud", velocidad rápida de formas de onda de  $\text{Ca}^{2+}$  con irregularidades y potenciales tránsitos no medibles)
- '*cese de latido*' de las células (sin tránsitos de  $\text{Ca}^{2+}$  observados).

Si los cambios inducidos por el compuesto en la señal transitoria de calcio no pudieron analizarse por el software, entonces estas señales se identificaron como BQL (por debajo de nivel de análisis de calidad).

#### *Análisis de datos*

Los datos, medidos del FDSS- $\mu$ Cell, se copiaron para su análisis fuera de línea y se analizaron y cargaron en SPEC-II (nuestro sistema de gestión operativa) para su posterior análisis. Los valores de las variables antes y después de la administración del compuesto se recolectaron y transfirieron a un libro de trabajo de Excel.

Todos los valores (unidades reales y cambios porcentuales con respecto a los valores de referencia) se expresan como mediana (mínimo y máximo). Los cambios en comparación con los valores de referencia correspondientes (en unidades reales) observados en el grupo compuesto se compararon con aquellos en el grupo de control de solvente usando la prueba de Wilcoxon-Man-Whitney. Se realizaron pruebas de dos colas con corrección de Bonferroni para el ajuste de multiplicidad. Dado que hay 10 grupos de tratamiento cada uno en comparación con el grupo de solvente, se consideró que el nivel alfa de 0,05/10 (0,005) refleja una diferencia estadísticamente significativa del grupo solvente. Todos los análisis estadísticos se realizaron usando el software adecuado, p. ej., el software R versión 3.5.2.

Control de calidad de los hiPSC-CM en la placa:

Las placas se rechazaron si no cumplieron con los siguientes criterios:

- latido regular estable
- Amplitud > 500 unidades relativas
- 5 - Velocidad de latidos entre 25 y 80 latidos por minuto
- CTD<sub>90</sub> entre 300 y 800 ms.

En el presente estudio, los hiPSC-CM en las placas cumplían los criterios anteriores.

Estos parámetros combinados con la incidencia de arritmia o cese de latidos se usaron para calcular el nivel de peligro potencial usando un método de puntuación ponderada (basado en Kopljar et al., Stem Cell Reports 2018. 11, 1365-1377). Esta puntuación de peligro se calcula por concentración mediante la adición de puntos ponderados basado en los intervalos de tolerancia (TI) en los cambios de CTD<sub>90</sub>, la velocidad de latidos y la amplitud ( $\Delta\Delta$  %) e incidencia de detención de latidos y después de la despolarización temprana (EAD). En consecuencia, para cada concentración se generará uno de cuatro niveles diferentes de peligro. Esto se realizará después de 30 minutos de incubación con compuesto. Los niveles de peligro son:

Sin peligro: dentro de los niveles de efecto del vehículo o cambios no relevantes pequeños.

Peligro bajo: efecto relevante pero potencialmente bajo riesgo para cargas cardíacas.

20 Peligros alto: riesgo relativo alto para cargas cardíacas.

Peligros muy altos: riesgo muy alto debido a eventos similares a los arrítmicos (EAD).

Los resultados de la '*puntuación de riesgo*' proporcionan una identificación de los posibles efectos cardíacos agudos inducidos por fármacos en el equivalente de fármaco libre (*ya que no se añaden proteínas plasmáticas a los pocillos*). La evaluación de la identificación

de peligros se realiza usando un “libro de referencia de puntuación” denominado CTCM\_Scoring\_version 1 (Kopljär et al., Stem Cell Reports 2018, 11: 1365-1377), y los niveles se indican de acuerdo con el siguiente esquema de color de la Tabla 10.

5 *Tabla 10 – Esquemas de color de la leyenda de identificación peligrosa*

|          |                                                   |
|----------|---------------------------------------------------|
| Verde    | Ninguna preocupación                              |
| Amarillo | Baja preocupación                                 |
| Rojo     | Alta preocupación                                 |
| Negra    | Muy alta preocupación debido a eventos arrítmicos |

Clasificación de un compuesto de prueba de acuerdo con la gravedad de la puntuación de peligro en el ensayo de tránsito de  $\text{Ca}^{2+}$  medido en HPSc-CMs como se  
 10 enumera anteriormente en diferentes colores y en la tabla asociada.

## RESULTADOS

### *Uso de cardiomiocitos 2 iCell® como línea celular*

Controles positivos y negativos: Todos los controles positivo y negativo tenían  
 15 efectos farmacológicos esperados en este ensayo. Los resultados se abrevian en las Tablas 11 y 12.

**Tabla 11-Puntuación de peligro para el Compuesto A3**

| Compuesto | Color a 0,1 $\mu\text{M}$ | Color a 0,2 $\mu\text{M}$ | Color a 0,5 $\mu\text{M}$ | Color a 1 $\mu\text{M}$ | Color a 2,5 $\mu\text{M}$ | Color a 5 $\mu\text{M}$ |
|-----------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|-------------------------|---------------------------|-------------------------|
| A3        | Verde                     | Verde                     | Verde                     | Verde                   | Verde                     | Verde                   |

**Tabla 12 - Puntuación de peligro para los Compuestos A1 y 11**

| Compuesto | Color a 0,1 $\mu\text{M}$ | Color a 0,3 $\mu\text{M}$ | Color a 1 $\mu\text{M}$ | Color a 3 $\mu\text{M}$ | Color a 10 $\mu\text{M}$ | Color a 30 $\mu\text{M}$ |
|-----------|---------------------------|---------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|
| A1        | Verde                     | Verde                     | Verde                   | Verde                   | Verde                    | Amarillo                 |
| 11        | Verde                     | Verde                     | Verde                   | Verde                   | Verde                    | Verde                    |

Para el Compuesto **A1**: con una dosis efectiva en modelos de xenoinjerto de  
 5 ratón de 30 mg/kg, la concentración humana CTCM vs. la  $C_{\text{máx. libre}}$  se estimaría de la  
 siguiente manera:

Margen CTCM humano 10  $\mu\text{M}$  vs.  $C_{\text{máx. libre}} > 16$  (ratón, humano)

Margen CTCM humano 30  $\mu\text{M}$  vs.  $C_{\text{máx. libre}} > 45$  (ratón, humano).

8) Efecto en la corriente  $I_{K_r}$  de potasio de la membrana en líneas celulares

10 *transfectadas con hERG*

### Protocolo 1:

#### Abreviaturas

|           |                                                                 |
|-----------|-----------------------------------------------------------------|
| CHO       | Línea celular de ovario de hámster chino                        |
| DMSO      | Dimetilsulfóxido                                                |
| hERG      | gen relacionado al <i>eter-à-go-go</i> humano                   |
| $I_{K_r}$ | corriente $K^+$ del rectificador retardado de activación rápida |

### 15 *Métodos*

Los experimentos se realizaron usando células CHO que expresan establemente el canal de potasio hERG. Las células se cultivaron a 37 °C y 5 % de  $\text{CO}_2$  en matraces de cultivo en el medio F12 de Ham suplementado con suero fetal de ternero inactivado por calor al 10 %, higromicina B (100  $\mu\text{g/ml}$ ) y geneticina (100  $\mu\text{g/ml}$ ). Para su uso en el

sistema automatizado de fijación en parche de membrana QPatch (Sophion) se recolectaron las células para obtener suspensión celular de células individuales.

Soluciones: La solución de baño contenía (en mM) 145 NaCl, 4 KCl, 10 glucosa, 10 HEPES ((4-(2-hidroxietil) -1-piperazinaetanosulfónico), 2 CaCl<sub>2</sub> y 1 MgCl<sub>2</sub> (pH 7,4 con NaOH). La solución de pipeta contenía (en mM) 120 KCl, 10 EGTA (etileno glicol-  
5 *bis*(2-aminoetiléter)-*N,N,N',N'*-ácido tetraacético), 10 HEPES, 5,374 CaCl<sub>2</sub> y 1,75 MgCl<sub>2</sub> (pH 7,2 con KOH).

Los experimentos de fijación en parche de membrana se realizaron en el modo de voltaje-pinza y las corrientes de células enteras se registraron con un ensayo de  
10 fijación en parche de membrana automatizado usando el sistema QPatch (Sophion). Las señales actuales se amplificaron y se digitalizaron, almacenaron y analizaron usando el software de ensayo QPatch.

El potencial de mantenimiento fue -80 mV. La corriente hERG (K<sup>+</sup> - corriente externa selectiva) se determinó como la corriente de cola máxima a -40 mV después de una  
15 despolarización de 2 segundos a +60 mV. La velocidad de ciclos de pulso fue 15 s. Un pulso corto (90 ms) a -40 mV sirvió como etapa inicial para calcular la amplitud de corriente de cola. Después de establecer la configuración de células completas y un período de estabilidad, se aplicó el control de solvente (DMSO al 0,3 %) durante 5 minutos seguido de la sustancia de prueba por cuatro concentraciones en aumento de  $33 \times 10^{-7}$  M,  $3 \times 10^{-6}$  M,  
20  $10^{-5}$  M y  $3 \times 10^{-5}$  M. Cada concentración de la sustancia de prueba se aplicó dos veces. El efecto de cada concentración se determinó después de 5 min como una corriente promedio de 3 pulsos de voltaje secuencial. Para determinar la extensión del bloque, se comparó la corriente residual con el tratamiento previo con vehículo.

Las relaciones de concentración/respuesta se calcularon mediante ajustes no lineales por mínimos cuadrados de los puntos de datos individuales. La concentración inhibitoria máxima media (IC50) se calculó mediante la rutina de ajuste.

## 5      *Protocolo 2:*

### *Células*

El compuesto, el vehículo de control y el control positivo se probaron en células HEK293 transfectadas con hERG. Se usó una línea celular de riñón embrionario humano (HEK293) con una transfección estable de hERG (Zhou Z et al. Biophysical Journal 1998.  
10    74, 230-241; McDonald T.V. et al, Nature 1997. 388, 289-292) (Universidad de Wisconsin, Madison, Estados Unidos). Las células se mantuvieron en cultivo en MEM (medio esencial mínimo, Gibco) que se suplementó con (cantidades indicadas añadidas a 500 ml MEM): 5 ml de L-glutamina-penicilina-estreptomicina (Sigma), 50 ml de suero bovino fetal (Bio-Whittaker), 5 ml de aminoácidos no esenciales 100x (Gibco), 5 ml de piruvato sódico  
15    100 mM (Gibco) y 4 ml de geneticina 50 mg/ml (Gibco) usando matraces T175. Las células se incubaron a 37 °C en atmósfera de 5 % de CO<sub>2</sub> (en aire).

### *Recolección de células para el ensayo*

Las células se recolectaron como se describe más abajo usando accumax™  
20    (Sigma) como el reactivo de disociación. Después, las células se resuspendieron en una mezcla de DMEM/F12 al 33 % (mezcla de medio Eagle modificado por Dulbecco/mezcla de nutrientes F-12-Sigma)/solución fisiológica extracelular al 67 %.

Los frascos se lavaron dos veces cuidadosamente con ~5-10 ml de solución salina regulada con fosfato (PBS) (Gibco™) que contiene 2 mM de EDTA (ácido

etilendiaminotetraacético) (Sigma). Las células se disociaron usando ~3 ml de accumax<sup>™</sup> (solución de desprendimiento de células) y se incubaron durante ~5 a 10 min. a 37 °C. Se añadió solución fisiológica externa fría (2-5 ml) y los matraces se incubaron a ~4 °C durante 5-10 min. Después, la suspensión celular en cada matraz se disoció  
5 suavemente con una pipeta de 5 ml. La suspensión celular se transfirió a una placa petri de baja unión (~10 mm de diámetro). Cada matraz se lavó con ~5 ml adicional de solución fisiológica externa fría y esta solución también se añadió a la placa petri. Después, la placa petri se incubó durante otros 5 a 10 minutos a ~4 °C. Después de otra disociación suave de la suspensión celular en la placa de petri, las células se  
10 transfirieron a un depósito mantenido en un agitador orbital a 200 rpm a 16 °C. Antes de realizar experimentos, las células se recuperaron durante ~20 min.

### *Compuestos*

Se usó una solución 10 mM del compuesto y se sembró en una placa de 384 pocillos.  
15 Las alícuotas de las soluciones madre se diluyen con la solución de registro usando un manejo de líquido automatizado (Biomek FXP; concentración final de DMSO 0,03 a 0,3 %). Se usó un rango estándar de concentraciones de detección que variaban de 1 µM a 30 µM.

Se incluyó un control positivo (E-4031) en cada serie para evaluar la sensibilidad del ensayo. La Tabla 13 resume las soluciones externas e intracelulares usadas en los  
20 experimentos. En la Tabla 13, la composición de las soluciones reguladoras intracelulares y externas se muestra en [mM] y “NMDG” significa N-metil-D-glucamina.

**Tabla 13 - Soluciones externas e intracelulares**

| Solución intracelular |     | Solución fisiológica extracelular/Solución de llenado pequeño |     | Solución mejoradora de sellado |    | Solución de registro |    |
|-----------------------|-----|---------------------------------------------------------------|-----|--------------------------------|----|----------------------|----|
| KCl                   | 10  | NaCl                                                          | 140 | NMDG                           | 60 | NMDG                 | 60 |
| KF                    | 110 | KCl                                                           | 4   | NaCl                           | 80 | NaCl                 | 80 |
| NaCl                  | 10  | Glucosa                                                       | 5   | KCl                            | 4  | KCl                  | 4  |
| HEPES                 | 10  | HEPES                                                         | 10  | CaCl <sub>2</sub>              | 10 | CaCl <sub>2</sub>    | 2  |
| EGTA                  | 10  | CaCl <sub>2</sub>                                             | 2   | MgCl <sub>2</sub>              | 1  | MgCl <sub>2</sub>    | 1  |
|                       |     | MgCl <sub>2</sub>                                             | 1   | Glucosa                        | 5  | Glucosa              | 5  |
|                       |     |                                                               |     | HEPES                          | 10 | HEPES                | 10 |
| pH 7,2 (KOH)          |     | pH 7,4 (NaOH)                                                 |     | pH 7,4 (HCL)                   |    | pH 7,4 (HCL)         |    |

*Diseño de estudio*

5 La técnica de fijación en parche de membrana de células enteras en células transfectadas permite estudiar los canales iónicos sin interferencias o con interferencias limitadas de otros canales iónicos. Los efectos de los compuestos en la corriente hERG se estudiaron con un sistema de fijación en parche de membrana automatizado planar, SyncroPatch 384PE (Obergrussberger et al, Journal of Laboratory Automation 2016, 21

10 (6), 779-793). Todas las células se registraron en el modo de célula completa de la técnica de fijación en parche de membrana. El módulo se incorpora en un sistema de robot de pipeteo de manipulación de líquido, Biomek FXP, para la aplicación de células y compuestos, control de vehículo y control positivo.

Las diferentes concentraciones de los compuestos se aplicaron en dos

15 concentraciones acumulativamente crecientes para los compuestos (1  $\mu\text{M}$  y 10  $\mu\text{M}$ , y 3  $\mu\text{M}$  y 30  $\mu\text{M}$ , respectivamente). La corriente de hERG se determinó como la corriente de cola máxima a -30 mV y se informó la inhibición porcentual tras la adición del compuesto o vehículo y control positivo.

Después de atrapar las células en los orificios individuales de los chips de grabación usando la solución de relleno de chips, se aumenta el sellado con la solución potenciadora de sellos (aumento de  $[Ca^{2+}]$ ); después, las células se lavaron dos veces con una solución de registro antes de usar un protocolo de presión para ir al modo de célula completa.

5           Una vez alcanzado el modo de célula entera, se administraron pulsos de prueba durante ~10 minutos para cuantificar la corriente hERG en condiciones de control. Durante este período de control, la solución de control de vehículo (solución de registro que contiene 0,03 % de DMSO) se añadió tres veces en los pocillos individuales. Mientras se continúa el protocolo de pulso, se añadió concentraciones crecientes  
10           acumulativamente del control de vehículo, compuesto o control positivo. El efecto del vehículo, compuesto y control positivo se midió después de 5 minutos de aplicación del fármaco. Se probaron dos concentraciones del compuesto por célula.

El uso de las soluciones interna y de registro dará lugar a ~ 10 mv de potencial de unión líquida y la etapa de voltaje de mando tendrá esto en cuenta.

15           Mediciones electrofisiológicas: La corriente de membrana de las células se midió en potenciales de membrana distintos con la técnica de fijación en parche de membrana por medio de un sistema de fijación en parche de membrana automatizado. El potencial de retención es -70 mV. La corriente hERG ( $K^+$  -corriente externa selectiva) se determinó como la corriente de cola máxima a -30 mV después de una despolarización  
20           de 2 segundos a 70 mV (refs. 1, 4). La velocidad de ciclo de pulso fue de 15 s.

### *Análisis de datos*

La corriente hERG corregida por fuga (corriente externa selectiva de  $K^+$ ) se determinó como la corriente de cola máxima a -30 mv tras 2 segundos de

despolarización a +70 mV medida entre 2336,3 ms y 3083,6 ms. La mediana de tres amplitudes de corriente se tomó al final del período de control y al final de cada adición del compuesto, el vehículo y el control positivo para calcular el porcentaje de inhibición.

Los parámetros de control de calidad se configuraron en el software SyncroPatch 384PE PatchControl384 para excluir automáticamente los pocillos del análisis si los valores quedaban fuera del rango. Los criterios de QC dependen del tipo de placa de registro (residuo mínimo). Típicamente, se usó un residuo mínimo de 4 x (orificio de tamaño medio) para registrar las células HEK293 transfectadas con hERG. Los criterios de QC 4-6 se establecieron antes de la primera adición del compuesto; Los criterios de QC 4 y 5 también se establecieron al final de cada adición de compuesto.

Criterios de control de calidad e intervalos aceptables:

1. Verificación del tablero: -500 pA - 500 pA
2. Resistencia al sello de contacto: -100 kOhm - 10 MOhm
3. Compensación potencial de unión 0-100 mV
- 15 4.  $R_{\text{sello}} \geq 100 \text{ MOhm}$
5.  $R_{\text{serie}}$ : entre 1-25 MOhm
6. Corriente de cola de hERG  $\geq 0,2 \text{ nA}$  antes de la adición del compuesto

Cada compuesto se reprodujo en la misma placa en al menos 5 pocillos. La inhibición porcentual de al menos 2-3 réplicas por concentración se informará como mediana. Los resultados se abrevian a continuación en las Tablas 14 y 15 para el Protocolo 1 y el Protocolo 2, respectivamente.

**Tabla 14 - IC<sub>50</sub> de hERG (μM) del Protocolo 1**

| Número del compuesto | hERG- IC <sub>50</sub> (μM) |
|----------------------|-----------------------------|
| A                    | >30,2                       |

**Tabla 15 - IC<sub>50</sub> de hERG (μM) del Protocolo 2**

5

| Ejemplo número | IC <sub>50</sub> de hERG μM |
|----------------|-----------------------------|
| 11             | >30,2                       |

*9) Estudio de eficacia en el modelo OCI-AML3 diseminado**Agentes de prueba y controles*

El compuesto **A3** se formuló en hidroxipropil-beta-ciclodextrina al 20 % (HP-β-  
 10 CD) y se preparó para alcanzar un volumen total de 0,2 ml (10 ml/kg) por dosis para un animal de 20 g. Las dosis se ajustaron por peso corporal individual cada día. Soluciones madre de trabajo del Compuesto **A3** se prepararon una vez por semana para cada estudio y se almacenaron a 25 °C.

*Animales*

15 Se usaron ratones hembra SCID color beige (CB17.Cg-PrkdcscidLystbg-J/Crl/-) cuando tenían aproximadamente 6 a 8 semanas de edad y pesaban aproximadamente 25 g. Todos los animales se pudieron aclimatar y recuperar de cualquier estrés relacionado con el envío durante un mínimo de 7 días antes del uso experimental. Se proporcionó agua esterilizada en autoclave y alimento irradiado a demanda y los animales se mantuvieron  
 20 en un ciclo de 12 horas de luz y oscuridad. Las jaulas, lechos y botellas de agua se

esterilizaron en autoclave antes del uso y se cambiaron semanalmente. El cultivo de tejidos y los reactivos de inyección celular se abrevian a continuación en la Tabla 16.

**Tabla 16: Reactivos para cultivo de tejidos e inyección celular**

5

|                                                         |
|---------------------------------------------------------|
| DPBS (Solución salina regulada con fosfato de Dulbecco) |
| Suero bovino fetal inactivado por calor                 |
| Medio MEM alfa                                          |
| L-glutamina                                             |
| Gentamicina                                             |
| Matraz de cultivo T175                                  |
| Botellas rotatorias                                     |

#### *Método del modelo de tumor y cultivo celular*

La línea celular de AML humana OCI-AML3 se cultivó a 37 °C, CO<sub>2</sub> al 5 % en los medios de cultivo completos indicados (MEM Alpha + HI-FBS al 20 % (suero fetal bovino  
10 activado por calor) + 2 mm de L-glutamina + 50 ug/ml de gentamicina). Las células se recolectaron mientras estaban en crecimiento logarítmico y se volvieron a suspender en MEM frío (4 °C) (medio esencial mínimo) alfa en medio libre de suero.

Para el modelo OCI-AML3 diseminado, cada ratón recibió 5 x 10<sup>5</sup> células mediante inyección IV en un volumen total de 0,2 ml usando una aguja de calibre 26.

15

#### *Diseños de estudio*

El Compuesto **A3** se administró por vía oral (PO), diariamente.

El día 0 es el día de implantación de las células tumorales y de inicio del estudio.

En el estudio de eficacia, ratones portadores de tumores xenoinjertados OCI-AML3 IV fueron asignados aleatoriamente a grupos de tratamiento 3 días después del injerto de células tumorales. Tratamiento con vehículo o Compuesto **A3** (a 30, 50, 100 mg/kg) se inició el mismo día, con administración diaria durante 28 días.

5

#### *Monitoreo de animales*

Los animales se monitorearon diariamente para detectar signos clínicos relacionados con la toxicidad del compuesto o la carga tumoral (es decir, parálisis de las extremidades posteriores, letargo, etc.).

10

#### *Cálculos*

Para evaluar la supervivencia, los resultados se graficaron como el porcentaje de supervivencia frente a los días posteriores al implante tumoral. Se utilizaron signos clínicos negativos y/o  $\geq 20$  % de pérdida de peso corporal como un criterio de valoración sustituto para la muerte. La supervivencia mediana se determinó usando el análisis de supervivencia de Kaplan Meier. El porcentaje de aumento de la esperanza de vida (ILS) se calculó como:  $((\text{día de supervivencia mediana del grupo tratado} - \text{día de supervivencia mediana del grupo de control}) / \text{día de supervivencia mediana del grupo de control}) \times 100$ . Los animales que no alcanzaron el criterio valoración sustituto debido a signos clínicos adversos (tales como tumores ulcerados, pérdida de peso corporal, etc.) o muerte no relacionada con el tratamiento, fueron censurados para la evaluación de supervivencia. Como se define por el criterio de NCI,  $\geq 25$  % de ILS se considera biológicamente significativa. (Johnson JI et al. Br J Cancer. 2001. 84(10), 1424-1431).

### *Análisis de datos*

Los datos de supervivencia y peso corporal se representaron gráficamente utilizando Prism (Versión 7). Se evaluó la significación estadística para los pesos corporales como se describió anteriormente. La significación estadística se evaluó para los gráficos de supervivencia de Kaplan-Meier que comparan el grupo de tratamiento terapéutico frente al control adecuado tratado con vehículo usando la prueba de rango logarítmico (Mantel-Cox) en el software R versión 3.4.2. Las diferencias entre grupos se consideraron significativas cuando el valor p fue  $\leq 0,05$ .

### *Supervivencia*

La curva de supervivencia de Kaplan-Meier se muestra en la **Figura 3**. Los ratones que portan tumores OCI-AML3 establecidos se dosificaron por vía oral con el Compuesto **A3** a 30, 50, 100 mg/kg en una formulación HP- $\beta$ -CD al 20 % durante un total de 28 días (n= 9-10/grupo). Para los grupos tratados con el Compuesto **A3**, los días de supervivencia mediana se alcanzó en los siguientes días durante 30 mg/kg el día 75,5, para 50 mg/kg en el día 58,5 y para 100 mg/kg el día 75, en comparación con una supervivencia mediana de 38,5 días para el grupo de control tratado con el vehículo. El tratamiento con el Compuesto **A3** resultó en una esperanza de vida incrementada estadísticamente significativa de ratones que portan el tumor OCI-AML3 de 96,1 %, 51,9 % y 94,8 % (en los niveles de dosis de 30, 50 y 100 mg/kg) en comparación con la de los ratones de control ( $p \leq 0,001$ ). Este fue un ILS biológicamente significativo según el umbral de los criterios de NCI de  $\geq 25$  % de ILS (Johnson JI et al. Br J Cancer. 2001. 84(10), 1424-1431).

10) *Eficacia del inhibidor de la menina-MLL en combinación con azacitidina en el modelo OCI-AML3 (NPM1c) IV en ratones NSG*

El modelo OCI-AML3 diseminado descrito anteriormente también se usó para examinar la eficacia del inhibidor de la menina-MLL (formulado como se describe anteriormente) en combinación con azacitidina (formulado en dimetilsulfóxido [DMSO] al 10 %) con las siguientes diferencias: (i) en lugar de hembras SCID color beige, se utilizaron NSG (gamma *scid* no diabético obeso [NOD, por sus siglas en inglés] o NOD.Cg-*Prkdc<sup>scid</sup> Il2rg<sup>tm1Wjl</sup>/SzJ*), (ii) en lugar de  $5 \times 10^5$  células, cada ratón recibió una inyección de  $1 \times 10^6$  células, (iii) en lugar de 3 días, el tratamiento con compuesto(s) se inició 5 días después de la inyección celular, y (iv) en lugar de un volumen total de 0,2 ml (10 ml/kg) por dosis, cada compuesto se preparó para alcanzar un volumen de 8 ml/kg. El Compuesto **A1** se administró por la mañana y la azacitidina por la tarde, aproximadamente 6-8 horas de diferencia. El tratamiento de cada grupo usando compuestos en este estudio de eficacia se resume en la Tabla 17.

15

**Tabla 17: Tratamiento de tumores OCI-AML3 en ratones**

| GRUPO | TRATAMIENTO (n=10)                  | DOSIS               | VÍA   | PROGRAMA       |
|-------|-------------------------------------|---------------------|-------|----------------|
| 1     | Vehículos                           | 8 ml/kg             | ip/po | QD x 7/QD x 28 |
| 2     | Azacitidina                         | 2 mg/kg             | Ip    | QD x 7         |
| 3     | Compuesto <b>A1</b>                 | 30 mg/kg            | Po    | QD x 28        |
| 4     | Azacitidina<br>+Compuesto <b>A1</b> | 2 mg/kg<br>30 mg/kg | ip/po | QD x 7/QD x 28 |

La curva de supervivencia de Kaplan-Meier se muestra en la **Figura 4A**. El impacto en la esperanza de vida de tratar ratones que portan tumores OCI-AML3 establecidos durante 4 semanas se resume en la Tabla 18.

5 **Tabla 18: Impacto en la vida útil tras el tratamiento de los tumores OCI-AML3 en ratones**

| TRATAMIENTO                         | % de ILS |
|-------------------------------------|----------|
| Azacitidina                         | *18      |
| Compuesto <b>A1</b>                 | *†33     |
| Azacitidina<br>+Compuesto <b>A1</b> | *†37     |

\*p<0,05 en comparación con el control de vehículo y los ratones tratados con †azacitidina.

10 Como se refleja en la Tabla 18, el tratamiento de ratones con el Compuesto **A1** en combinación con azacitidina resultó en un aumento estadísticamente significativo de la vida útil (ILS) de los ratones portadores del tumor OCI-AML3 en comparación con la de los ratones tratados con el control de vehículo o con azacitidina sola. No hubo diferencias estadísticas, y por tanto no hubo antagonismo, con el Compuesto **A1** en  
15 combinación con azacitidina en comparación con el Compuesto **A1** solo.

#### *11) Eficacia del inhibidor de la menina-MLL en combinación con azacitidina en el modelo MOLM-13 (KMT2A-r) IV en ratones NSG*

Un enfoque similar al del modelo OCI-AML3 diseminado descrito en la presente  
20 descripción para examinar la eficacia del inhibidor de la menina-MLL en combinación con azacitidina se adoptó con las células MOLM-13 usadas en lugar de células OCI-AML3.

### *Método del modelo de tumor y cultivo celular*

La línea celular de AML humana MOLM-13 se cultivó a 37 °C, CO<sub>2</sub> al 5 % en los medios de cultivo completos indicados (RPMI, Roswell Park Memorial Institute [RPMI] 1640 + HI FBS al 10 % + 2 mm de L-glutamina + 50 µg/ml de gentamicina). Las células se recolectaron mientras estaban en crecimiento logarítmico y se volvieron a suspender en medio RPMI 1640 libre de suero frío (4 °C). Cada ratón recibió una inyección de 1 x 10<sup>5</sup> células MOLM-13, y todos los demás parámetros se realizaron como se describe para el experimento (10).

El tratamiento de cada grupo usando compuesto(s) en este estudio de eficacia se resume en la Tabla 19.

**Tabla 19 - Tratamiento de tumores MOLM-13 en ratones**

| GRUPO | TRATAMIENTO (n=10)                  | DOSIS               | VÍA   | PROGRAMA       |
|-------|-------------------------------------|---------------------|-------|----------------|
| 1     | Vehículos                           | 8 ml/kg             | ip/po | QD x 7/QD x 28 |
| 2     | Azacitidina                         | 2 mg/kg             | Ip    | QD x 7         |
| 3     | Compuesto <b>A1</b>                 | 10 mg/kg            | Po    | QD x 28        |
| 4     | Azacitidina<br>+Compuesto <b>A1</b> | 2 mg/kg<br>10 mg/kg | ip/po | QD x 7/QD x 28 |

La curva de supervivencia de Kaplan-Meier se muestra en la **Figura 4B**. El impacto en la esperanza de vida de tratar ratones que portan tumores MOLM-13 establecidos durante 4 semanas se resume en la Tabla 20.

**Tabla 20: Impacto en la vida útil tras el tratamiento de los tumores MOLM-13 en ratones**

| TRATAMIENTO                         | % de ILS |
|-------------------------------------|----------|
| Azacitidina                         | *35      |
| Compuesto <b>A1</b>                 | *†35     |
| Azacitidina<br>+Compuesto <b>A1</b> | *†106    |

\*p<0,05 en comparación con el control de vehículo y los ratones tratados con †azacitidina.

5 Como se refleja en la Tabla 20, el tratamiento de ratones con el Compuesto **A1** en combinación con azacitidina resultó en un aumento estadísticamente significativo de la vida útil (ILS) de los ratones portadores del tumor MOLM-13 en comparación con la de los ratones tratados con azacitidina o con el Compuesto **A1** solo.

10

### *12) Eficacia del inhibidor de la menina-MLL en combinación con gilteritinib en el modelo MOLM-13 (KMT2A-r) IV en ratones NSG*

Un enfoque similar al del modelo OCI-AML3 diseminado descrito en la presente descripción para examinar la eficacia del inhibidor de la menina-MLL en combinación con  
15 gilteritinib se adoptó con las células MOLM-13 usadas en lugar de células OCI-AML3.

#### *Método del modelo de tumor y cultivo celular*

La línea celular de AML humana MOLM-13 se cultivó a 37 °C, CO<sub>2</sub> al 5 % en los medios de cultivo completos indicados (RPMI, Roswell Park Memorial Institute [RPMI]  
20 1640 + HI FBS al 10 % + 2 mm de L-glutamina + 50 µg/ml de gentamicina). Las células se recolectaron mientras estaban en crecimiento logarítmico y se volvieron a suspender

en medio RPMI 1640 libre de suero frío (4 °C). Cada ratón recibió una inyección de  $1 \times 10^5$  células MOLM-13, y todos los demás parámetros se llevaron a cabo según lo descrito para el experimento (10 anterior denominado “*Eficacia del inhibidor de la menina-MLL en combinación con azacitidina en el modelo OCI-AML3 (NPM1c) IV en ratones NSG*”).

5 El tratamiento de cada grupo usando compuesto(s) en este estudio de eficacia se resume en la Tabla 21.

**Tabla 21: Tratamiento de tumores MOLM-13 en ratones**

| GRUPO | TRATAMIENTO (n=10)                   | DOSIS                | VÍA   | PROGRAMA         |
|-------|--------------------------------------|----------------------|-------|------------------|
| 1     | Vehículos                            | 8 ml/kg              | po/po | QD x 28/ QD x 28 |
| 2     | Gilteritinib                         | 10 mg/kg             | po    | QD x 28          |
| 3     | Compuesto <b>A1</b>                  | 10 mg/kg             | po    | QD x 28          |
| 4     | Gilteritinib<br>+Compuesto <b>A1</b> | 10 mg/kg<br>10 mg/kg | po/po | QD x 28/ QD x 28 |

10

La curva de supervivencia de Kaplan-Meier se muestra en la **Figura 5**. El impacto en la vida útil del tratamiento en ratones portadores de tumores MOLM-13 establecidos durante 4 semanas se resume en la Tabla 22.

15 **Tabla 22: Impacto en la vida útil tras el tratamiento de los tumores MOLM-13 en ratones**

| TRATAMIENTO                          | % de ILS |
|--------------------------------------|----------|
| Gilteritinib                         | *63      |
| Compuesto <b>A1</b>                  | *50      |
| Gilteritinib<br>+Compuesto <b>A1</b> | *†>111   |

\*p<0,05 en comparación con el control de vehículo y los ratones tratados con † gilteritinib.

Como se refleja en la Tabla 22, el tratamiento de ratones con el Compuesto **A1** en combinación con gilteritinib resultó en un aumento estadísticamente significativo de la vida útil (ILS) de los ratones portadores del tumor MOLM-13 en comparación con la de los ratones tratados con gilteritinib o con el Compuesto **A1** solo.

5

*13) Proliferación in vitro: Inhibidor de la menina-MLL en combinación con el inhibidor de FLT3 (gilteritinib o midostaurina), agente intercalante del ADN (idarubicina) o agente hipometilante (decitabina)*

#### 10 *Líneas celulares*

Las líneas celulares de AML MOLM-13, OCI-AML3 y MV4-11 se adquirieron de DSMZ. Se cultivó MOLM-13 en medio RPMI suplementado con suero bovino fetal (FBS) al 10 % y penicilina/estreptomicina al 1 %. Las células MV4-11 se cultivaron en medio IMDM suplementado con 10 % de FBS y 1 % de penicilina/estreptomicina. Las células OCI-AML3  
15 se cultivaron en 80-90 % de alfa-MEM (con ribo- y desoxirribonucleósidos) + 10-20 % de FBS. Todas las líneas celulares se cultivaron a 37 °C en una atmósfera de 5 % de CO<sub>2</sub>.

#### *Ensayos Glo de título celular*

Se sembraron líneas celulares de AML ( $5 \times 10^3$  células/pocillo) en placas de 96  
20 pocillos y se cultivaron durante 6 días en medio con suero (10 %) en la presencia o ausencia de inhibidores a las concentraciones indicadas. La proliferación se analizó por medio de un ensayo Glo de título celular usando el Ensayo de proliferación celular de una solución acuosa CellTiter 96 (Promega, Madison, WI, USA), de acuerdo con las

instrucciones del fabricante. Los datos son la media con desviación estándar de dos a cuatro experimentos independientes en triplicados técnicos.

### *Cálculos de sinergia*

5           Modelo Bioquímicamente Intuitivo Generalizado de Loewe (BIGL, por sus siglas en inglés) basado en R implementado con un modelo nulo de agente único superior (HSA, por sus siglas en inglés). Específicamente, la metodología BIGL se aplicó para calcular las interacciones fármaco-fármaco (Van der Borgh, K., Tourny, A., Bagdziunas, R. et al. BIGL: Biochemically Intuitive Generalized Loewe null model for prediction of the  
10   expected combined effect compatible with partial agonism and antagonism. Sci Rep 7, 17935 (2017); Thas, O., Tourny, A., Verbist, B., Hawinkel, S., Nazarov, M., Mutambanengwe, K., & Bijmens, L. Statistical detection of synergy: New methods and a comparative study. Pharmaceutical Statistics (2021)).

Resultados de la matriz de sinergia del análisis BIGL de los datos de la línea  
15   celular con HSA como modelo medio calculado sobre la base de la actividad metabólica celular usando el ensayo de titulación celular Glo. Se indican los intervalos de confianza de remuestreo. Se muestran los tamaños de efectos y sus intervalos de confianza. Notablemente, cada punto de datos basado en el valor p y la señal de la estadística de maxR respectiva con el tamaño de los puntos refleja el grado de sinergia o antagonismo  
20   correspondiente a la escala graduada. No hay un efecto promedio significativo si cero se incluye en el intervalo.

## Resultados

### (A) Inhibidor de la menina-MLL en combinación con el inhibidor de FLT3 (gilteritinib o midostaurina)

Se evaluó una combinación matricial por pares de gilteritinib o midostaurina con el Compuesto **A4** en las líneas celulares de AML MOLM-13 (reordenamiento KMT2A) y MV4-11 (FLT3-ITD) usando un formato de ensayo CellTiter-Glo de 6 días. Notablemente, la combinación del Compuesto **A4** con gilteritinib o midostaurina no es antagónicamente citotóxica en ninguna de estas líneas celulares (como se refleja en las **Figuras 6A y 6B** detalladas a profundidad más abajo en las **Tablas 23A y 23B** para gilteritinib; y en las **Figuras 7A y 7B**, detalladas a profundidad más abajo en las **Tablas 24A y 24B** para midostaurina).

Se encontró que las dosis bajas del inhibidor de FLT3 más selectivo de gilteritinib (es decir, 5 nm o 0,5 nm) en combinación con el Compuesto **A4** tenían un efecto sinérgico en las líneas celulares MOLM-13 y MV4-11, respectivamente, como indicaba una mayor disminución de la proliferación celular en comparación con la que cabría esperar de una respuesta aditiva (ver las **Figuras 6A y 6B**, así como las **Tablas 23A y 23B**).

**Tabla 23A: Efecto del Compuesto A4 en combinación con gilteritinib en la proliferación de células MOLM-13.**

|                            |  | MOLM-13                     |                                |                             |                              |                            |
|----------------------------|--|-----------------------------|--------------------------------|-----------------------------|------------------------------|----------------------------|
| Compuesto A4<br>( $\mu$ M) |  | -0,017<br>(-0,0517,0,0177)  | -0,0065<br>(-0,0471,0,034)     | 0,0527*<br>(0,0101,0,0952)  | -0,0555<br>(-0,0891,-0,0219) | 0,0005<br>(-0,0316,0,0325) |
|                            |  | -0,0217<br>(-0,0681,0,0247) | -0,0802**<br>(-0,1202,-0,0401) | -0,0143<br>(-0,0564,0,0278) | -0,0559<br>(-0,0895,-0,0223) | 0<br>(-0,0321,0,0321)      |

|      |                               |                                |                                |                              |                             |
|------|-------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|------------------------------|-----------------------------|
| 0,05 | -0,0395<br>(-0,0813,0,0023)   | -0,1895**<br>(-0,2303,-0,1487) | -0,3031**<br>(-0,3432,-0,2631) | -0,0568<br>(-0,0904,-0,0232) | -0,0004<br>(-0,0325,0,0317) |
| 0,1  | -0,0281<br>(-0,064,0,0077)    | -0,157**<br>(-0,1919,-0,1222)  | -0,2794**<br>(-0,3133,-0,2455) | -0,0573<br>(-0,0909,-0,0237) | -0,0006<br>(-0,0327,0,0314) |
| 1    | -0,0177<br>(-0,0538,0,0184)   | -0,1611**<br>(-0,1961,-0,1261) | -0,2593**<br>(-0,2935,-0,225)  | -0,0576<br>(-0,0912,-0,024)  | -0,0008<br>(-0,0329,0,0312) |
| 10   | -0,0426*<br>(-0,0792,-0,0059) | -0,1987**<br>(-0,2342,-0,1632) | -0,2843**<br>(-0,3191,-0,2495) | -0,058<br>(-0,0916,-0,0244)  | -0,0009<br>(-0,033,0,0311)  |
| (μM) | 0.0005                        | 0.005                          | 0.01                           | 0.1                          | 1                           |

Nótese que la ausencia de cualquier asterisco indica un efecto aditivo, el antagonismo se indica por “\*\*” y la sinergia se indica por “\*\*\*”. Los efectos antagónicos y sinérgicos se derivan de las llamadas significativas basadas en la prueba maxR y las cantidades asociadas con los mismos interpretadas como antagónicas o sinérgicas, respectivamente.

## 5 Tabla 23B: Efecto del Compuesto A4 en combinación con gilteritinib en la proliferación de células MV4-11.

| MV4-11            |       |                                |                             |                             |                             |                             |
|-------------------|-------|--------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| Compuesto A4 (μM) | 0,001 | -0,0484<br>(-0,1364,0,0396)    | -0,0103<br>(-0,0597,0,0392) | -0,0083<br>(-0,0351,0,0185) | -0,0081<br>(-0,0337,0,0175) | -0,0098<br>(-0,0353,0,0158) |
|                   | 0,01  | -0,4743**<br>(-0,5379,-0,4106) | -0,0204<br>(-0,069,0,0282)  | -0,0174<br>(-0,0429,0,0081) | -0,0172<br>(-0,0416,0,0071) | -0,0174<br>(-0,042,0,0072)  |
|                   | 0,05  | -0,0784**<br>(-0,1366,-0,0202) | -0,0219<br>(-0,0705,0,0267) | -0,0184<br>(-0,0439,0,007)  | -0,0178<br>(-0,0422,0,0065) | -0,0177<br>(-0,0423,0,0069) |
|                   | 0,1   | -0,0331<br>(-0,0638,-0,0024)   | -0,0218<br>(-0,0633,0,0198) | -0,0186<br>(-0,044,0,0068)  | -0,0178<br>(-0,0422,0,0065) | -0,0173<br>(-0,0419,0,0072) |
|                   | 1     | -0,0191<br>(-0,0553,0,017)     | -0,0217<br>(-0,0475,0,0042) | -0,0183<br>(-0,0391,0,0025) | -0,0176<br>(-0,0384,0,0032) | -0,0175<br>(-0,0385,0,0036) |
|                   | 10    | -0,0198<br>(-0,0564,0,0168)    | -0,0204<br>(-0,0464,0,0056) | -0,0184<br>(-0,0392,0,0024) | -0,0171<br>(-0,0378,0,0037) | -0,0173<br>(-0,0382,0,0037) |
| Gilteritinib (μM) |       | 0,0005                         | 0,005                       | 0,01                        | 0,1                         | 1                           |

Nótese que la ausencia de cualquier asterisco indica un efecto aditivo, el antagonismo se indica por “\*\*” y la sinergia se indica por “\*\*\*”. Los efectos antagónicos y sinérgicos se derivan de las llamadas significativas basadas en la prueba maxR y las cantidades asociadas con los mismos interpretadas como antagónicas o sinérgicas, respectivamente.

## Tabla 24A: Efecto del Compuesto A4 en combinación con midostaurina en la proliferación de células MOLM-13.

**MOLM-13**

|                   |       |                       |                               |                             |                             |                             |                            |
|-------------------|-------|-----------------------|-------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| Compuesto A4 (μM) | 0,001 | -0,09<br>(-0,77,0,59) | -0,15<br>(-0,78,0,47)         | -0,05<br>(-0,33,0,24)       | -0,0283<br>(-0,154,0,0973)  | 0,0009<br>(-0,1416,0,1434)  | 0,011<br>(-0,1494,0,1715)  |
|                   | 0,01  | -0,28<br>(-0,84,0,28) | -0,3497<br>(-0,864,0,1645)    | -0,1<br>(-0,32,0,11)        | -0,0288<br>(-0,1545,0,0967) | 0,0005<br>(-0,142,0,143)    | 0,0105<br>(-0,1499,0,1711) |
|                   | 0,05  | -0,21<br>(-0,73,0,32) | -0,4124*<br>(-0,8122,-0,0126) | -0,114<br>(-0,3236,0,0956)  | -0,029<br>(-0,1547,0,0965)  | 0,0003<br>(-0,1422,0,1429)  | 0,01<br>(-0,15,0,17)       |
|                   | 0,1   | -0,11<br>(-0,65,0,44) | -0,3254<br>(-0,7521,0,1012)   | -0,1197<br>(-0,3293,0,0898) | -0,0302<br>(-0,1559,0,0954) | 0<br>(-0,1425,0,1426)       | 0,0101<br>(-0,1503,0,1707) |
|                   | 1     | -0,05<br>(-0,55,0,44) | -0,2989<br>(-0,6331,0,0352)   | -0,1254<br>(-0,335,0,0841)  | -0,0311<br>(-0,1568,0,0945) | -0,0003<br>(-0,1429,0,1422) | 0,01<br>(-0,1504,0,1706)   |
|                   | 10    | -0,02<br>(-0,52,0,48) | -0,2274<br>(-0,6002,0,1453)   | -0,1329<br>(-0,3425,0,0766) | -0,0317<br>(-0,1574,0,0938) | -0,0002<br>(-0,1428,0,1423) | 0,01<br>(-0,1504,0,1705)   |
| Midostaurina (μM) |       | 0,0012                | 0,006                         | 0,025                       | 0,05                        | 0,1                         | 0,5                        |

Nótese que la ausencia de cualquier asterisco indica un efecto aditivo, el antagonismo se indica por “\*” y la sinergia se indica por “\*\*\*”. Los efectos antagónicos y sinérgicos se derivan de las llamadas significativas basadas en la prueba maxR y las cantidades asociadas con los mismos interpretadas como antagónicas o sinérgicas, respectivamente.

## 5 Tabla 24B: Efecto del Compuesto A4 en combinación con midostaurina en la proliferación de células MV4-11.

| MV4-11            |        |                       |                        |                       |                       |                        |                      |
|-------------------|--------|-----------------------|------------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------|----------------------|
| Compuesto A4 (μM) | 0,001  | 0,04<br>(-0,83,0,91)  | 0,16<br>(-0,72,1,04)   | -0,12<br>(-0,58,0,34) | -0,07<br>(-0,38,0,23) | -0,01<br>(-0,29,0,27)  | 0,04<br>(-0,27,0,34) |
|                   | 0,01   | -0,09<br>(-0,71,0,53) | -0,26<br>(-0,77,0,26)  | -0,25<br>(-0,58,0,08) | -0,1<br>(-0,37,0,16)  | -0,02<br>(-0,29,0,24)  | 0,03<br>(-0,27,0,34) |
|                   | 0,05   | 0,01<br>(-0,41,0,43)  | -0,09<br>(-0,04,0,25)  | -0,14<br>(-0,4,0,12)  | -0,1<br>(-0,32,0,11)  | -0,02<br>(-0,26,0,21)  | 0,03<br>(-0,25,0,32) |
|                   | 0,1    | -0,02<br>(-0,35,0,3)  | -0,06<br>(-0,03,0,15)  | -0,09<br>(-0,33,0,15) | -0,09<br>(-0,3,0,11)  | -0,02<br>(-0,024,0,19) | 0,03<br>(-0,23,0,3)  |
|                   | 1      | 0<br>(-0,61,0,31)     | -0,03<br>(-0,31,0,26)  | -0,04<br>(-0,3,0,22)  | -0,04<br>(-0,28,0,19) | -0,02<br>(-0,23,0,19)  | 0,03<br>(-0,2,0,27)  |
|                   | 10     | -0,01<br>(-0,32,0,3)  | -0,02<br>(-0,032,0,28) | -0,04<br>(-0,31,0,24) | -0,04<br>(-0,29,0,21) | -0,02<br>(-0,24,0,2)   | 0,03<br>(-0,2,0,27)  |
| ostaurina (μM)    | 0,0012 | 0,006                 | 0,025                  | 0,05                  | 0,1                   | 0,5                    |                      |

Nótese que la ausencia de cualquier asterisco indica un efecto aditivo, el antagonismo se indica por “\*” y la sinergia se indica por “\*\*\*”. Los efectos antagónicos y sinérgicos se derivan de las llamadas significativas basadas en la prueba maxR y las cantidades asociadas con los mismos interpretadas como antagónicas o sinérgicas, respectivamente.

(B) *Inhibidor de la menina-MLL en combinación con idarubicina*

Se evaluó una combinación matricial por pares de idarubicina y el Compuesto **A4** en MOLM-13 (KMT2A-AF9; FLT3-ITD) y OCI-AML3 (NPM1c AML) usando un formato de ensayo de titulación celular Glo de 6 días. Notablemente, la combinación de idarubicina y el Compuesto **A4** no es antagónicamente citotóxica en MOLM-13 (KMT2A-AF9; FLT3-ITD) como se refleja en el gráfico de contorno (**Figura 8A**) y se detalla más abajo en la **Tabla 25A**.

**Tabla 25A: Efecto del Compuesto A4 en combinación con idarubicina en la proliferación de células MOLM-13.**

|                   |       | MOLM-13               |                       |                       |                        |                       |                     |
|-------------------|-------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------|-----------------------|---------------------|
| Compuesto A4 (μM) | 0,001 | 0,01<br>(-1,17,1,2)   | -0,06<br>(-1,14,1,02) | 0,03<br>(-0,86,0,91)  | -0,011<br>(-0,37,0,14) | -0,01<br>(-0,26,0,24) | 0<br>(-0,27,0,28)   |
|                   | 0,01  | -0,29<br>(-0,97,0,39) | -0,37<br>(-0,85,0,1)  | -0,22<br>(-0,54,0,09) | -0,12<br>(-0,36,0,13)  | -0,01<br>(-0,26,0,24) | 0<br>(-0,28,0,28)   |
|                   | 0,05  | 0,05<br>(-1,1,1,2)    | -0,2<br>(-1,01,0,61)  | -0,22<br>(-0,56,0,13) | -0,12<br>(-0,36,0,13)  | -0,01<br>(-0,26,0,24) | 0<br>(-0,28,0,28)   |
|                   | 0,1   | -0,13<br>(-1,04,0,78) | -0,2<br>(-1,0,6)      | -0,22<br>(-0,55,0,11) | -0,12<br>(-0,36,0,13)  | -0,01<br>(-0,26,0,24) | 0<br>(-0,28,0,28)   |
|                   | 1     | -0,04<br>(-1,05,0,97) | -0,23<br>(-0,94,0,49) | -0,23<br>(-0,53,0,08) | -0,12<br>(-0,36,0,13)  | -0,01<br>(-0,26,0,24) | 0<br>(-0,28,0,28)   |
|                   | 10    | -0,09<br>(-1,02,0,84) | -0,22<br>(-0,93,0,49) | -0,23<br>(-0,54,0,09) | -0,12<br>(-0,36,0,13)  | -0,01<br>(-0,26,0,24) | 0,03<br>(-0,2,0,27) |
| Idarubicina (μM)  |       | 0,0005                | 0,001                 | 0,0025                | 0,005                  | 0,05                  | 0,5                 |

Nótese que la ausencia de cualquier asterisco indica un efecto aditivo, el antagonismo se indica por “\*” y la sinergia se indica por “\*\*\*”. Los efectos antagónicos y sinérgicos se derivan de las llamadas significativas basadas en la prueba maxR y las cantidades asociadas con los mismos interpretadas como antagónicas o sinérgicas, respectivamente.

De la misma manera, la combinación de idarubicina y el Compuesto **A4** no es antagónicamente citotóxica en las células OCI-AML3 (NPM1c AML), como se refleja en el gráfico de contorno (**Figura 8B**) y se detalla más abajo en la **Tabla 25B**.

**Tabla 25B: Efecto del Compuesto A4 en combinación con idarubicina en la proliferación de células OCI-AML3.**

| OCI-AML3          |        |                            |                            |                             |                             |                             |                             |
|-------------------|--------|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| Compuesto A4 (μM) | 0,001  | 0,1007<br>(-1,5384,1,7398) | 0,3603<br>(-1,4806,2,2013) | -0,0327<br>(-1,2165,1,151)  | 0,0528<br>(-0,5376,0,6432)  | -0,037<br>(-0,4368,0,3629)  | -0,0381<br>(-0,4381,0,3618) |
|                   | 0,01   | 0,017<br>(-1,5624,1,5964)  | 0,0815<br>(-1,5596,1,7226) | -0,0366<br>(-1,216,1,1428)  | 0,0474<br>(-0,5313,0,6261)  | -0,0374<br>(-0,4372,0,3625) | -0,0387<br>(-0,4386,0,3613) |
|                   | 0,05   | 0,1506<br>(-1,4135,1,7147) | -0,0079<br>(-1,4359,1,42)  | -0,2467<br>(-1,1435,0,6502) | 0,0217<br>(-0,4979,0,5414)  | -0,0378<br>(-0,4376,0,362)  | -0,0389<br>(-0,4389,0,361)  |
|                   | 0,1    | 0,319<br>(-1,1162,1,7543)  | 0,2051<br>(-1,1259,1,5362) | -0,2418<br>(-0,8807,0,3972) | 0,0167<br>(-0,4894,0,5228)  | -0,0381<br>(-0,4379,0,3617) | -0,0392<br>(-0,4391,0,3608) |
|                   | 1      | 0,2842<br>(-1,0472,1,6157) | 0,245<br>(-1,0486,1,5386)  | -0,2579<br>(-0,807,0,2911)  | 0,0157<br>(-0,4875,0,519)   | -0,0385<br>(-0,4384,0,3613) | -0,0393<br>(-0,4393,0,3606) |
|                   | 10     | 0,1371<br>(-1,0467,1,3209) | 0,1199<br>(-1,0454,1,2853) | -0,3011<br>(-0,7383,0,1362) | -0,0057<br>(-0,4647,0,4533) | -0,0388<br>(-0,4386,0,361)  | -0,0395<br>(-0,4394,0,3604) |
| Idarubicina (μM)  | 0,0005 | 0,001                      | 0,0025                     | 0,005                       | 0,05                        | 0,5                         |                             |

5 Nótese que la ausencia de cualquier asterisco indica un efecto aditivo, el antagonismo se indica por “\*” y la sinergia se indica por “\*\*\*”. Los efectos antagónicos y sinérgicos se derivan de las llamadas significativas basadas en la prueba maxR y las cantidades asociadas con los mismos interpretadas como antagónicas o sinérgicas, respectivamente.

*(C) Inhibidor de la menina-MLL en combinación con decitabina*

Se evaluó una combinación matricial por pares de decitabina y el Compuesto **A4** en

10 MOLM-13 (KMT2A-AF9; FLT3-ITD) y OCI-AML3 (NPM1c) usando un formato de ensayo Glo de título celular de 6 días. Notablemente, la combinación de decitabina y el Compuesto **A4** resultó ser citotóxica sinérgicamente en MOLM-13 (KMT2A-AF9; FLT3-ITD) como se refleja en el gráfico de contorno (**Figura 9A**) y se detalla más abajo en la **Tabla 26A**.

15 **Tabla 26A: Efecto del Compuesto A4 en combinación con decitabina en la proliferación de células MOLM-13.**

MOLM-13

|                   |       |                              |                                |                                |                              |                             |
|-------------------|-------|------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|------------------------------|-----------------------------|
| Compuesto A4 (μM) | 0,001 | -0,0237<br>(-0,0627,0,0153)  | -0,0274<br>(-0,0651,0,0103)    | -0,0185<br>(-0,0436,0,0066)    | -0,0029<br>(-0,0152,0,0095)  | -0,0014<br>(-0,0138,0,0109) |
|                   | 0,01  | -0,0156<br>(-0,0566,0,0254)  | -0,0637**<br>(-0,1007,-0,0267) | -0,0463<br>(-0,0706,-0,022)    | -0,0109<br>(-0,0228,0,0009)  | -0,0059<br>(-0,0179,0,0062) |
|                   | 0,05  | -0,0232<br>(-0,0569,0,0106)  | -0,1574**<br>(-0,1879,-0,1268) | -0,1644**<br>(-0,1846,-0,1442) | -0,0192<br>(-0,0305,-0,008)  | -0,0101<br>(-0,0219,0,0017) |
|                   | 0,1   | -0,0058<br>(-0,0363,0,0248)  | -0,1435**<br>(-0,1703,-0,1166) | -0,1783**<br>(-0,198,-0,1587)  | -0,0211<br>(-0,0323,-0,01)   | -0,0107<br>(-0,0224,0,001)  |
|                   | 1     | -0,0041<br>(-0,0328,0,0245)  | -0,1694**<br>(-0,1932,-0,1456) | -0,1895**<br>(-0,2087,-0,1703) | -0,022<br>(-0,033,-0,0109)   | -0,0114<br>(-0,0231,0,0003) |
|                   | 10    | -0,0387<br>(-0,0665,-0,0108) | -0,2**<br>(-0,223,-0,177)      | -0,1958**<br>(-0,2148,-0,1768) | -0,0214<br>(-0,0325,-0,0102) | -0,0116<br>(-0,0233,0,0001) |
| Decitabina (μM)   |       | 0,0015                       | 0,015                          | 0,15                           | 1,5                          | 3                           |

Nótese que la ausencia de cualquier asterisco indica un efecto aditivo, el antagonismo se indica por “\*\*” y la sinergia se indica por “\*\*\*”. Los efectos antagonistas y sinérgicos se derivan de las llamadas significativas basadas en la prueba maxR y las cantidades asociadas con los mismos interpretadas como antagónicas o sinérgicas, respectivamente.

- 5 Se observaron efectos antagonistas en las células OCI-AML3 (AML NPM1c) a dosis bajas de decitabina (15 nm), como se refleja en el gráfico de contorno (**Figura 9B**) y se detalla más abajo en la **Tabla 26B**.

**Tabla 26B: Efecto del Compuesto A4 en combinación con decitabina en la**

10 **proliferación de células OCI-AML3.**

|                   |       |                             |                               |                              |                             |                             |
|-------------------|-------|-----------------------------|-------------------------------|------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| OCI-AML3          |       |                             |                               |                              |                             |                             |
| Compuesto A4 (μM) | 0,001 | -0,0483<br>(-0,1014,0,0047) | -0,0238<br>(-0,0813,0,0338)   | -0,0156<br>(-0,065,0,0338)   | -0,024<br>(-0,0524,0,0043)  | -0,0127<br>(-0,0404,0,0151) |
|                   | 0,01  | -0,0234<br>(-0,0831,0,0364) | -0,1175**<br>(-0,1731,-0,062) | -0,038<br>(-0,0869,0,0109)   | -0,0267<br>(-0,055,0,0015)  | -0,0128<br>(-0,0405,0,0149) |
|                   | 0,05  | 0,0136<br>(-0,0364,0,0636)  | 0,0588<br>(0,0078,0,1097)     | -0,0571<br>(-0,1055,-0,0086) | -0,0258<br>(-0,0541,0,0025) | -0,0136<br>(-0,0413,0,0141) |
|                   | 0,1   | 0,0139<br>(-0,0299,0,0576)  | 0,1279*<br>(0,0814,0,1745)    | -0,0603<br>(-0,1086,-0,0119) | -0,0228<br>(-0,0512,0,0056) | -0,0136<br>(-0,0413,0,0141) |
|                   | 1     | 0,0141<br>(-0,0288,0,057)   | 0,1688*<br>(0,122,0,2156)     | -0,0504<br>(-0,094,-0,0067)  | -0,0246<br>(-0,053,0,0037)  | -0,013<br>(-0,0407,0,0147)  |
|                   | 10    | 0,0288<br>(-0,0156,0,0732)  | 0,1406*<br>(0,0934,0,1877)    | -0,0324<br>(-0,0767,0,012)   | -0,018<br>(-0,0466,0,0106)  | -0,0114<br>(-0,0392,0,0163) |
| Decitabina (μM)   |       | 0,0015                      | 0,015                         | 0,15                         | 1,5                         | 3                           |

Nótese que la ausencia de cualquier asterisco indica un efecto aditivo, el antagonismo se indica por “\*\*” y la sinergia se indica por “\*\*\*”. Los efectos antagónicos y sinérgicos se derivan de las llamadas significativas basadas en la prueba maxR y las cantidades asociadas con los mismos interpretadas como antagónicas o sinérgicas, respectivamente.

5 *14) Proliferación in vitro: Inhibidor de la menina-MLL en combinación con el inhibidor de DHODH (Compuesto 22)*

El efecto del Compuesto **A3** en combinación con un inhibidor de DHODH (Compuesto **22**) se determinó en ensayos de proliferación usando las líneas celulares MOLM-13 (KMT2A-r) y OCI-AML3 (NPM1c). Las células MOLM-13 se sembraron a 2000  
 10 células/pocillo y las células OCI-AML3 se sembraron a 1000 células/pocillo en placas de 96 pocillos y se expusieron al fármaco indicado en combinación a la concentración especificada detallada en la **Tabla 27A y la Tabla 27B**. En particular, se combinó un rango de concentración del Compuesto **A3** (una dilución en serie cuádruple de 6 puntos comenzando con una concentración inicial de 1  $\mu$ M en MOLM-13 o 15  $\mu$ M en OCI-AML3)  
 15 con un rango de concentración del Compuesto **22** (una dilución en serie triple de 7 puntos comenzando con una concentración inicial de 75 nm en MOLM13 o 250 nm en OCI-AML3). Las células MOLM-13 y OCI-AML3 se incubaron a 37 °C, CO<sub>2</sub> al 5 % con la combinación de fármacos indicada durante 8 días (Compuesto **A3** y Compuesto **22**) por cuadruplicado.

El crecimiento en forma de esferoide se monitorizó en tiempo real mediante  
 20 imágenes no invasivas de células vivas usando el objetivo 4× del sistema de imágenes de células vivas Incucyte ZOOM (Essen BioScience), y adquiriendo imágenes el día 8. El porcentaje de confluencia, como medida del tamaño de esferoide, se determinó usando una herramienta de análisis integrada que es la parte del software IncuCyte ZOOM “IncuCyte OOOM 2016B” (Essen BioScience). El contenido de DMSO se normalizó a  
 25 0,3 % y el porcentaje de confluencia desde el pocillo DMSO se usó como respuesta inicial.

Los efectos potenciales de la combinación se evaluaron en el día 8 y se analizó la sinergia usando un modelo bioquímicamente intuitivo generalizado de loewe (BIGL) basado en R implementado con un modelo nulo de agente único superior (HSA) (Van der Borgh 2017). Se agruparon y analizaron los datos de 2 experimentos independientes con células MOLM-13 o 3 experimentos independientes con células OCI-AML3.

### *Resultados*

La combinación de doblete del Compuesto **A3** con el Compuesto **22** condujo a una inhibición significativamente mayor de la proliferación celular en comparación con la monoterapia con el Compuesto **A3** o el Compuesto **22** en la línea celular MOLM-13 (ver la **Figura 10A**). Se observaron fuertes efectos sinérgicos a lo largo de un rango de concentraciones en células MOLM-13 como se refleja en el gráfico de contorno (**Figura 10A**) y se detalla más abajo en la **Tabla 27A** donde el tamaño del efecto se representa como la diferencia entre el resultado observado y el resultado esperado de los tratamientos combinados con un intervalo de confianza del 95 % mostrado entre paréntesis.

En las células OCI-AML3, la monoterapia con el Compuesto **A3** y el Compuesto **22** produjo una potente inhibición del crecimiento. No se observaron efectos sinérgicos ni antagónicos para la terapia de combinación doblete del Compuesto **A3** y el Compuesto **22**, como se refleja en el gráfico de contorno (**Figura 10B**) y se detalla más abajo en la **Tabla 27B**.

**Tabla 27A: Efecto del Compuesto A3 en combinación con el inhibidor de DHODH (Compuesto 22) en la proliferación de células MOLM-13.**

|                                |        |                        |                        |                           |                           |                           |                           |                           |
|--------------------------------|--------|------------------------|------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Compuesto A3 ( $\mu\text{M}$ ) | 1      | -0,02<br>(-0,13, 0,09) | -0,02<br>(-0,13, 0,09) | -0,08<br>(-0,19, 0,02)    | -0,16**<br>(-0,25, -0,07) | -0,12**<br>(-0,19, -0,05) | -0,11**<br>(-0,16, -0,05) | -0,11**<br>(-0,16, -0,05) |
|                                | 0,25   | 0,00<br>(-0,12, 0,13)  | -0,01<br>(-0,14, 0,11) | -0,10<br>(-0,21, 0,01)    | -0,22**<br>(-0,32, -0,13) | -0,09**<br>(-0,17, -0,02) | -0,04<br>(-0,11, 0,03)    | -0,09<br>(-0,15, 0,03)    |
|                                | 0,0625 | -0,01<br>(-0,15, 0,14) | -0,04<br>(-0,18, 0,11) | -0,21**<br>(-0,33, -0,10) | -0,24**<br>(-0,34, -0,13) | -0,03<br>(-0,12, 0,06)    | -0,02<br>(-0,09, 0,05)    | -0,02<br>(-0,09, 0,06)    |
|                                | 0,0156 | 0,07<br>(-0,07, 0,20)  | 0,06<br>(-0,08, 0,20)  | -0,04<br>(-0,17, 0,09)    | -0,13<br>(-0,25, -0,01)   | 0,02<br>(-0,07, 0,12)     | 0,01<br>(-0,07, 0,08)     | -0,00<br>(-0,08, 0,08)    |
|                                | 0,004  | 0,06<br>(-0,07, 0,20)  | 0,08<br>(-0,06, 0,22)  | 0,07<br>(-0,07, 0,21)     | -0,04<br>(-0,17, 0,09)    | 0,03<br>(-0,07, 0,12)     | 0,01<br>(-0,07, 0,10)     | -0,00<br>(-0,08, 0,08)    |
|                                | 0,001  | 0,09<br>(-0,05, 0,23)  | 0,08<br>(-0,06, 0,22)  | 0,07<br>(-0,07, 0,21)     | -0,01<br>(-0,15, 0,12)    | 0,03<br>(-0,06, 0,13)     | -0,00<br>(-0,08, 0,08)    | -0,01<br>(-0,09, 0,07)    |
| Compuesto 22 (nM)              |        | 0,0997                 | 0,309                  | 0,927                     | 2,79                      | 8,37                      | 25                        | 75                        |

5 Obsérvese que la ausencia de cualquiera asterisco indica un efecto aditivo, el antagonismo se indica con “ \* ” y la sinergia con “ \*\* ”. Los efectos antagónicos y sinérgicos se derivan de las llamadas significativas basadas en la prueba maxR y las cantidades asociadas con los mismos interpretadas como antagónicas o sinérgicas, respectivamente.

**Tabla 27B: Efecto del Compuesto A3 en combinación con el inhibidor de DHODH (Compuesto 22) en la proliferación de células OCI-AML3.**

|                                |       |                        |                        |                        |                           |                         |                         |                         |
|--------------------------------|-------|------------------------|------------------------|------------------------|---------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| Compuesto A3 ( $\mu\text{M}$ ) | 15    | -0,03<br>(-0,08, 0,02) | -0,04<br>(-0,08, 0,01) | -0,01<br>(-0,06, 0,04) | -0,05<br>(-0,09, 0,00)    | -0,07<br>(-0,12, -0,03) | -0,09<br>(-0,13, -0,04) | -0,08<br>(-0,12, -0,03) |
|                                | 3,75  | 0,00<br>(-0,04, 0,05)  | 0,01<br>(-0,04, 0,05)  | 0,01<br>(-0,04, 0,05)  | -0,02<br>(-0,07, 0,03)    | -0,05<br>(-0,10, -0,01) | -0,08<br>(-0,13, -0,04) | -0,07<br>(-0,12, -0,03) |
|                                | 0,937 | 0,03<br>(-0,02, 0,08)  | 0,04<br>(-0,01, 0,09)  | 0,04<br>(-0,01, 0,09)  | -0,01<br>(-0,05, 0,04)    | -0,06<br>(-0,10, -0,02) | -0,07<br>(-0,11, -0,03) | -0,08<br>(-0,12, -0,03) |
|                                | 0,240 | 0,06<br>(0,00, 0,11)   | 0,07<br>(0,01, 0,12)   | 0,08*<br>(0,03, 0,13)  | 0,00<br>(-0,05, 0,05)     | -0,06<br>(-0,10, -0,01) | -0,07<br>(-0,11, -0,02) | -0,07<br>(-0,12, -0,03) |
|                                | 0,059 | -0,00<br>(-0,07, 0,06) | 0,03<br>(-0,04, 0,09)  | 0,04<br>(-0,03, 0,10)  | -0,10**<br>(-0,17, -0,04) | -0,02<br>(-0,08, 0,03)  | -0,04<br>(-0,09, 0,01)  | -0,03<br>(-0,08, 0,02)  |
|                                | 0,015 | 0,03<br>(-0,03, 0,10)  | 0,05<br>(-0,01, 0,12)  | 0,06<br>(-0,00, 0,13)  | -0,08<br>(-0,14, -0,01)   | 0,00<br>(-0,05, 0,05)   | -0,01<br>(-0,05, 0,04)  | -0,01<br>(-0,06, 0,04)  |
| Compuesto 22 (nM)              |       | 0,06                   | 0,24                   | 0,98                   | 3,99                      | 15,6                    | 62,4                    | 250                     |

Nótese que la ausencia de cualquier asterisco indica un efecto aditivo, el antagonismo se indica por “\*” y la sinergia se indica por “\*\*”. Los efectos antagónicos y sinérgicos se derivan de las llamadas significativas basadas en la prueba maxR y las cantidades asociadas con los mismos interpretadas como antagónicas o sinérgicas, respectivamente.

15) *Eficacia in vivo del inhibidor de la menina-MLL en combinación con el inhibidor de DHODH en modelos diseminados de leucemia mieloide aguda humana (MOLM-13 y OCI-AML)*

15A) *Eficacia del inhibidor de la menina-MLL en combinación con el inhibidor de*

5 *DHODH en el modelo MOLM-13 (KMT2A-r) IV en ratones NSG*

*Diseños de estudio*

El inhibidor de la menina-MLL, Compuesto **A1**, se administró por vía oral (PO) y se formuló en beta-hidroxipropil-ciclodextrina (HP- $\beta$ -CD) al 20 %. El inhibidor de DHODH, Compuesto **22**, se administró por vía oral (PO) y se formuló en metilcelulosa al 0,5 %.

10 El día 0 es el día de la implantación de las células tumorales y el inicio del estudio.

En el estudio de eficacia de MOLM-13, los ratones portadores de tumores xenoinjertados de MOLM-13 IV se asignaron aleatoriamente a grupos de tratamiento 5 días después del injerto de células tumorales.

El tratamiento con vehículo, Compuesto **A1** (10 mg/kg o 30 mg/kg), Compuesto **22** 15 (0,063 mg/kg o 0,125 mg/kg) o la combinación Compuesto **22** (0,063 mg/kg o 0,125 mg/kg) + Compuesto **A1** (10 mg/kg, PM) se inició el día 5, con dosificación diaria durante 28 días. En la cohorte de combinación, los ratones fueron dosificados con el Compuesto **22** por la mañana con una dosis espaciada de 8 horas del Compuesto **A1**. El tratamiento de cada grupo usando compuesto(s) en este estudio de eficacia se resume en la **Tabla 28**.

20

**Tabla 28: Tratamiento de tumores MOLM-13 en ratones**

| GRUPO | TRATAMIENTO (n=10) | DOSIS   | VÍA   | PROGRAMA        |
|-------|--------------------|---------|-------|-----------------|
| 1     | Vehículos          | 8 ml/kg | po/po | QD x 28/QD x 28 |

|   |                                              |                         |          |                    |
|---|----------------------------------------------|-------------------------|----------|--------------------|
| 2 | Compuesto <b>A1</b>                          | 10 mg/kg                | po       | QD x 28            |
| 3 | Compuesto <b>A1</b>                          | 30 mg/kg                | po       | QD x 28            |
| 4 | Compuesto <b>22</b>                          | 0,063 mg/kg             | po       | QD x 28            |
| 5 | Compuesto <b>22</b>                          | 0,125 mg/kg             | po       | QD x 28            |
| 6 | Compuesto <b>22</b> +<br>Compuesto <b>A1</b> | 0,063 mg/kg<br>10 mg/kg | po<br>po | QD x 28<br>QD x 28 |
| 7 | Compuesto <b>22</b> +<br>Compuesto <b>A1</b> | 0,063 mg/kg<br>30 mg/kg | po<br>po | QD x 28<br>QD x 28 |
| 8 | Compuesto <b>22</b> +<br>Compuesto <b>A1</b> | 0,125 mg/kg<br>10 mg/kg | po<br>po | QD x 28<br>QD x 28 |
| 9 | Compuesto <b>22</b> +<br>Compuesto <b>A1</b> | 0,125 mg/kg<br>30 mg/kg | po<br>po | QD x 28<br>QD x 28 |

**Tabla 29: Impacto en la mediana de supervivencia y la vida útil tras el tratamiento de los tumores MOLM-13 en ratones**

| TRATAMIENTO                                                        | Mediana de supervivencia | % de ILS |
|--------------------------------------------------------------------|--------------------------|----------|
| Vehículos                                                          | 18                       |          |
| Compuesto <b>22</b> (0,063 mg/kg)                                  | 38                       | *111     |
| Compuesto <b>22</b> (0,0125 mg/kg)                                 | 40,5                     | *125     |
| Compuesto <b>A1</b> (10 mg/kg)                                     | 38                       | *111     |
| Compuesto <b>A1</b> (30 mg/kg)                                     | 61                       | *239     |
| Compuesto <b>22</b> (0,063 mg/kg) + Compuesto <b>A1</b> (10 mg/kg) | 67,5                     | *275     |
| Compuesto <b>22</b> (0,063 mg/kg) + Compuesto <b>A1</b> (30 mg/kg) | NA*                      | *†>383   |
| Compuesto <b>22</b> (0,125 mg/kg) + Compuesto <b>A1</b> (10 mg/kg) | NA*                      | *†>383   |
| Compuesto <b>22</b> (0,125 mg/kg) + Compuesto <b>A1</b> (30 mg/kg) | NA*                      | *†>383   |

5 \*p<0,05 en comparación con el control de vehículo y los ratones tratados con inhibidores de †DHODH; NA = mediana de supervivencia no alcanzada

La curva de supervivencia de Kaplan Meier se muestra en la **Figura 11A** y la mediana de supervivencia y el % de ILS se presentan en la **Tabla 29**. En términos de %  
10 de ILS, el tratamiento de ratones con el inhibidor de DHODH, Compuesto **22**, en combinación con el Compuesto **A1** dio lugar a un aumento estadísticamente significativo

de la vida útil de los ratones portadores del tumor MOLM-13 en comparación con la de los ratones tratados con vehículos. Cuando 0,063 mg/kg del Compuesto 22 se combinó con 30 mg/kg del Compuesto **A1**, o cuando 0,125 mg/kg del Compuesto 22 se combinó con 10 o 30 mg/kg del Compuesto **A1**, se observó una prolongación significativa de la vida útil que fue superior a la aditiva y estadísticamente significativa en comparación con el Compuesto **22** o el Compuesto **A1** como monoterapia.

*15B) Eficacia del inhibidor de la menina-MLL en combinación con el inhibidor de DHODH en el modelo OCI-AML3 (NPM1c) IV en ratones NSG*

En el estudio de eficacia de OCI-AML3, los ratones portadores de tumores xenoinjertados de OCI-AML3 IV se asignaron aleatoriamente a grupos de tratamiento 5 días después del injerto de células tumorales. El tratamiento con vehículo (como se describe anteriormente para MOLM-13), Compuesto **A1** (30 mg/kg o 100 mg/kg), Compuesto **22** (0,125 mg/kg o 0,25 mg/kg) o la combinación del Compuesto **22** (0,125 mg/kg o 0,25 mg/kg) + Compuesto **A1** (30 mg/kg o 100 mg/kg, PM) se inició el día 5, con dosificación diaria durante 28 días. En las cohortes de combinación, los ratones fueron dosificados con el Compuesto **22** por la mañana con una dosis espaciada de 8 horas del Compuesto **A1**. Las dosis más altas del Compuesto **A1** o del Compuesto **22** se usaron en comparación con el estudio diseminado MOLM-13 debido a la sensibilidad diferencial de los tumores al tratamiento en monoterapia. El tratamiento de cada grupo usando compuesto(s) en este estudio de eficacia se resume en la **Tabla 30**.

**Tabla 30: Tratamiento de tumores OCI-AML3 en ratones**

| GRUPO | TRATAMIENTO (n=10)                           | DOSIS                   | VÍA      | PROGRAMA           |
|-------|----------------------------------------------|-------------------------|----------|--------------------|
| 1     | Vehículos                                    | 8 ml/kg                 | po/po    | QD x 28/QD x 28    |
| 2     | Compuesto <b>A1</b>                          | 30 mg/kg                | po       | QD x 28            |
| 3     | Compuesto <b>A1</b>                          | 100 mg/kg               | po       | QD x 28            |
| 4     | Compuesto <b>22</b>                          | 0,125 mg/kg             | po       | QD x 28            |
| 5     | Compuesto <b>22</b>                          | 0,25 mg/kg              | po       | QD x 28            |
| 6     | Compuesto <b>22</b> +<br>Compuesto <b>A1</b> | 0,125 mg/kg<br>30 mg/kg | po<br>po | QD x 28<br>QD x 28 |
| 7     | Compuesto <b>22</b> +<br>Compuesto <b>A1</b> | 0,25 mg/kg<br>100 mg/kg | po<br>po | QD x 28<br>QD x 28 |

**Tabla 31: Impacto en la mediana de supervivencia y la vida útil tras el**

5 **tratamiento de los tumores OCI-AML3 en ratones**

| TRATAMIENTO                                                        | Mediana de supervivencia | % de ILS |
|--------------------------------------------------------------------|--------------------------|----------|
| Vehículos                                                          | 26                       |          |
| Compuesto <b>22</b> (0,125 mg/kg)                                  | 41,5                     | *60      |
| Compuesto <b>22</b> (0,25 mg/kg)                                   | 43                       | *65      |
| Compuesto <b>A1</b> (30 mg/kg)                                     | 38,5                     | *48      |
| Compuesto <b>A1</b> (100 mg/kg)                                    | 40                       | *54      |
| Compuesto <b>22</b> (0,125 mg/kg) + Compuesto <b>A1</b> (30 mg/kg) | 48                       | *†85     |
| Compuesto <b>22</b> (0,25 mg/kg) + Compuesto <b>A1</b> (100 mg/kg) | NA*                      | *†100    |

\*p<0,05 en comparación con el control de vehículo y los ratones tratados con inhibidores de †DHODH; NA = mediana de supervivencia no alcanzada

10 La curva de supervivencia de Kaplan Meier se muestra en la **Figura 11B** y la mediana de supervivencia y el % de ILS se presentan en la **Tabla 31**. Para los ratones tratados con cualquiera de las combinaciones del Compuesto **22** + Compuesto **A1**, la mediana de supervivencia se alcanzó con un mayor número de días que la de los tratados con vehículo o en comparación con cada compuesto en monoterapia, como se

refleja en la **Tabla 31**. En términos de % de ILS, el tratamiento de ratones con el inhibidor de DHODH, el Compuesto **22**, en combinación con el Compuesto **A1** dio lugar a un aumento estadísticamente significativo de la vida útil de los ratones portadores del tumor OCI-AML3 en comparación con la de los ratones tratados con vehículos o con el

5    Compuesto **22** o el Compuesto **A1** como una monoterapia.